ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PARIS. — L. MARETHEUX, IMPRIMEUR, 1, RUE CASSETTE.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

TOME TRENTIÈME

1916

AVEC 11 PLANCHES

PARIS

MASSON ET C[ie], ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6[e]).

T. XXX. — 1916. Janvier. — N° 1.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° I

30e ANNÉE JANVIER 1916 N° 1

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de M. E. Metchnikoff.

CERTAIN ALTERATIONS IN BIOLOGICAL PROPERTIES OF SPIROCHAETES THROUGH ARTIFICIAL CULTIVATION

by HIDEYO NOGUCHI.

(From the Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical Research.)

A new era in the experimental research of syphilis was opened out by Metchnikoff and Roux when they succeeded in transmitting syphilis to anthropoid apes (1). It was they also who furnished the experimental syphilitic material in which *Treponema pallidum* was first demonstrated, this microorganism having in the meantime been found by Schaudinn and Hoffmann to be present in human syphilis. By this means one of the requisite postulates for the establishment of the etiological relation between *Treponema pallidum* and syphilis was provided. To the pioneer work of Metchnikoff and Roux we are indebted for many of the subsequent developments in the field of experimental syphilis.

(1) Metchnikoff et Roux, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1903, 1904, 1905, 1906, 1907; — *Bull. de l'Acad. de Méd.*, Paris, t. LXIX, n° 20, and *Bull. méd.*, 1905, p. 441.

Of late years one of the most disputed problems in connection with the experimental research of syphilis has been that of the cultivation of *Treponema pallidum*. This particular phase of the investigation has called forth profound study on the part of numerous experimental workers, but it was not until the cultivation of Treponema pallidum was undertaken with a purely experimental material (namely the uncomplicated syphiloma of the rabbit's testicle, after Uhlenhuth and Mulzer) that the vexed question as to the identity of the spirochaeta cultivated according to various methods was finally decided. We recall a time when any spirochaeta cultivated from human syphilitic tissue (highly impure material and resembling *Treponema pallidum* in its morphological features was thought to be the organism of syphilis (Schereschewsky, Mühlens, W. H. Hoffmann); but as the result of subsequent investigations carried out with the pure experimental syphilitic material, it has been shown that certains cultures formerly held to be those of the *pallidum* differed essentially from a virulent culture derived from the latter material in being putrefactive and avirulent [Noguchi (1), confirmed by the subsequent works of Sowade, Tomascewski, Arnheim, Shmamine, Nakano, Baeslack and others] (2). It has now been settled beyond dispute that an odor-producing *Treponema* is not the *Treponema pallidum*, and this conclusion has been arrived at through the aid of experimental syphilis produced in suitable animals. In commemorating the jubilee of our master Professor Metchnikoff it may therefore not be out of place here to record a few of the phenomena observed by me during the last few years in connection with *Treponema pallidum* and other members of the genus *Treponema*.

The phenomena in question relate to certain modifications which were seen to occur in the biological properties of various treponemata after the latter had been subjected to brief or prolonged cultivation on artificial media. It may here be recalled that I have succeeded in obtaining in pure cultures the

(1) Noguchi, *Journ. Am. Med. Assoc.*, July, 8, 1911, p. 102; — *Münch. med. Wochenschr.*, 1901, n° 29, p. 1550; — *Jour. Exper. Med.*, 1911, t. XIV, p. 99; — *Jour. Exper. Med.*, 1912, t. XV, p. 90.

(2) A review may be found in *La Presse Médicale*, n° 76, septembre 1913.

following varieties the of *Treponema* group : *Tr. pallidum*, *Tr. pertenue*, *Tr. macrodentium*, *Tr. microdentium*, *Tr. mucosum*, *Tr. calligyrum* and *Tr. refringens*. These were maintained in pure cultures by successive transplantations and kept under observation for two to four years [since 1910-1912] (1). The salient points of interest are briefly as follows :

From a morphological standpoint no striking modifications has been observed in these cultures. They still retain their original types even after a period of from two to four years. The staining reactions are also unaffected, although the *pallidum*, when grown in a fluid medium, takes up the red component of the Giemsa somewhat more readily than the specimens in the tissue or solid culture media. On the other hand it has been noticed that certain definite alterations occur in their biological properties. In the case of the *pallidum* the virulence disappeared within about four months after its purification. In that of the *pertenue* it was found that the strain I studied lost its virulence as soon as it was freshly isolated in pure culture. The power possessed by the *microdentium* to produce an intense disagreeable odor remained undiminished for nearly one year, but this gradually and almost imperceptibly diminished in intensity and now after two years the odor is scarcely noticeable. In the case of the *mucosum* it was found that its mucin-producing property gradually weakened and finally disappeared within about five months after its isolation. Although the odor-producing property of this species has suffered a more gradual diminution in the course of a prolonged life in culture, nevertheless it is distinctly less marked than was the case two years ago. The other species here mentioned possess no remarkable features, and they apparently remain unmodified in their characteristics, none of them being odor-producing.

The gradual or often sudden disappearance of the virulence of highly parasitic organisms, such as the *pallidum* and *pertenue*, under artificial cultural conditions is not much to be wondered at, especially when we know from the experiments

(1) For the literature see the bibliography in the article appearing in n° 76 of *La Presse Médicale*, sept. 1913.

of Levaditi, Yamanouchi and M'Intosh that they rapidly become avirulent, even when cultivated in a collodion sac within the peritoneal cavity of suitable animals. On the other hand, it is rather astonishing to learn that the saprophytic species, such as the *microdentium* and *mucosum*, also undergo profound alterations in their biological characteristics. Probably the cultural conditions accorded them, which undoubtedly approximate a state of parasitism more than those of the natural habitus of these organisms, were responsible for the gradual loss of their putrefactive property, and this may constitute an example of functional loss through the disuse of certain faculties brought about by the new environments.

PRÉPARATION DU CATGUT

par A. GORIS,
Professeur agrégé à l'École Supérieure de Pharmacie,
Pharmacien-chef des Hôpitaux de Paris.

(Travail du Laboratoire de M. le Professeur Borrel.)

De tout le matériel opératoire, le *catgut*, plus encore peut-être que le chloroforme, est l'objet des préoccupations du chirurgien. Posséder un catgut parfait est pour l'opérateur un souci constant, et cela s'explique puisque le catgut est le seul fil résorbable qu'il soit facile de se procurer.

En quoi donc consiste, pour le catgut, cette perfection si ardemment réclamée par le corps chirurgical ?

Un catgut doit-être : *stérile*, *solide*, *souple*. C'est dans cet ordre de gradation que sont formulés les vœux du chirurgien. C'est à l'obtention de ces qualités — dites couramment qualités des 3-S — que s'exercent toute l'habileté et la science des fabricants d'objets de pansements.

Pour quelqu'un de non prévenu il semble, *a priori*, que ces propriétés sont faciles à obtenir, mais le désenchantement arrive bientôt, dès que l'on veut passer de la théorie à la pratique. On constate rapidement que, souvent, le procédé capable d'assurer une bonne stérilisation compromet la solidité du fil, et que la solidité elle-même n'est parfois obtenue qu'au détriment de la souplesse.

Chargé de la vérification des fils à ligature livrés au Service de Santé militaire, ou fabriqués par ce Service, nous avons pu, au cours de cette année, nous livrer à toute une série d'essais en vue d'étudier les meilleures méthodes pour obtenir un catgut parfait.

Nous avons trouvé, à l'Institut Pasteur, l'hospitalité la plus large et la plus bienveillante. Les conseils les plus judicieux nous furent prodigués par MM. Roux et Borrel et, lorsque nos essais nous conduisirent à cette conclusion que la stérilité et la

solidité des catguts devaient s'obtenir par des moyens nouveaux, leur encouragement à persévérer dans cette voie nous fut un guide des plus précieux.

Nous avons rencontré en MM. Pauleau et Pellerin des chefs attentifs à suivre nos essais et à en faciliter la mise à exécution. Nous sommes d'autant plus heureux de leur adresser nos remerciements que nous n'avons pas toujours reçu semblable encouragement dans d'autres administrations.

Il y a quelques années, désireux d'étudier la stérilisation des catguts, nous avions obtenu de M. Mesureur, directeur de l'Assistance publique, le plus bienveillant accueil et les crédits les plus larges. Au bout de quelques mois, nos essais furent arrêtés brusquement par l'intransigeance d'un ingénieur, dont l'ingérence en cette question ne se comprend pas très bien.

En renouvelant ici nos remerciements à M. Mesureur pour l'intérêt témoigné à nos recherches, nous regrettons que cette étude n'ait pu être faite pour le bénéfice moral et matériel d'une Administration à laquelle nous sommes entièrement dévoué.

PREMIÈRE PARTIE

Le catgut est préparé avec l'intestin grêle de mouton. A l'abattoir, les boyaux sont vidés du résidu alimentaire ; ils subissent ensuite un traitement spécial chez les boyaudiers.

Pour éviter toute confusion, nous allons dès maintenant donner des appellations définitives aux différents matériaux obtenus aux cours des opérations.

A l'aide d'un instrument spécial, l'intestin est tout d'abord grossièrement raclé, puis fendu suivant les deux extrémités d'un diamètre. Nous appellerons boyaux les intestins ainsi divisés longitudinalement et dont *la flore microbienne est intacte*.

Ces fragments sont mis à macérer dans des solutions de carbonate de sodium ou de soude caustique. Les ouvriers raclent ensuite la muqueuse interne de ces boyaux, que l'on conserve dans les solutions alcalines jusqu'au moment du filage. Le contact avec les solutions de carbonate de sodium ou de

soude peut donc se prolonger pendant vingt-quatre, quarante-huit heures, et même trois jours, suivant l'intensité du travail.

A la fin de cette macération, certains boyaudiers traitent ces produits par l'eau oxygénée ou l'acide sulfureux, en vue de les blanchir. Nous appellerons *lanières* les demi-boyaux ainsi raclés après macération dans les solutions de carbonate de soude, et traités ou non par les antiseptiques.

Les lanières, réunies par 2, 3, 4, 5, sont tordues au moyen d'une sorte de rouet de cordier, fixées sur des cadres en bois, où la dessiccation s'opère. On obtient ainsi les *cordes*. Les *cordes commerciales* sont toujours poncées, polies, et, le plus souvent, huilées.

Nous réservons le mot *catgut* pour la corde commerciale qui a subi une série d'opérations pharmaceutiques en vue de la rendre stérile.

Le matériel que nous avons employé consiste :

1° En cordes commerciales (1), n°s 3 et 4 ;
2° En cordes commerciales, n°s 3 et 4, mises à macérer dans des bouillons de culture ;
3° En cordes préparées par nous-même avec des boyaux ;
4° En cordes préparées avec des lanières stériles (2) et infectées au moment de la torsion avec des cultures microbiennes.

On enroule 25 à 30 centimètres de ces différentes cordes sur des tubes de verre de 4 centimètres de longueur et 7 millimètres de diamètre.

Les microbes ayant servi à infecter les cordes sont :

1° Une culture de tétanos riche en spores ;
2° Un mélange de bouillons de tétanos, vibrion septique, staphylocoque ;
3° Les microbes existant normalement dans les boyaux ;
4° Un bouillon ensemencé avec de la terre de jardin, qui avait été souillée par précaution avec les bouillons n° 2. Quelques centigrammes de cette terre séchée à l'étuve servent à ensemencer un bouillon dans lequel sont alors plongés nos test-objets constitués par la corde commerciale enroulée sur de petites bobines. Après macération de vingt-quatre à trente-six heures, on retire ces bobines, on fait sécher à l'étuve pendant sept à huit jours; on a alors un matériel infecté qui peut se prêter à tous les essais.

(1) Cordes commerciales, de la maison T......., qui ont servi pour toutes ces expériences.
(2) Lanières obtenues stériles par macération pendant vingt-quatre heures dans de l'eau oxygénée au tiers.

Nous nous sommes rapidement rendu compte que les microbes existant normalement dans la terre étaient beaucoup plus résistants que ceux ajoutés par nous. En particulier, nous y avons rencontré le *B. mesentericus* (bacille de la pomme de terre), qui a résisté à deux chauffages d'une heure à 134 degrés dans la vapeur de benzine (1). Par la suite, nous avons donc surtout visé la destruction de ce micro-organisme dans les test-objets préparés avec le bouillon ensemencé avec cette terre.

L'emploi de ce bacille, que le hasard nous a fait seul choisir, est des plus judicieux. La spore de ce bacille est très résistante, et l'on peut dire que les méthodes qui parviendront à la détruire seront probablement efficaces pour toutes les autres spores. La culture de ce bacille ne peut prêter à aucune erreur d'interprétation concernant une contamination accidentelle, parce que le bouillon ensemencé par ce microbe dégage une odeur désagréable.

Les méthodes de stérilisation que nous avons étudiées sont :

1° La stérilisation par l'iode;

2° La stérilisation par les essences (Essence de genièvre, Eucalyptol);

3° La stérilisation par tyndallisation dans l'alcool à 90° (chauffage à 60 degrés, 10 heures par jour, pendant cinq jours), procédé employé par le Service de Santé militaire;

4° La stérilisation par chauffage à diverses températures dans les liquides anhydres;

5° La stérilisation par chauffage à diverses températures dans des vapeurs de liquides anhydres.

Examinons séparément chacun de ces procédés.

Stérilisation par l'iode.

La stérilisation des cordes par contact avec une solution iodée se pratique généralement de la façon suivante :

Après les traitements prélimaires que l'on fait subir aux cordes, les bobines sont introduites dans des tubes en verre préalablement stérilisés au four à flamber. On y verse, en quantité suffisante, une solution iodo-iodurée à 0,50 p. 100. On laisse en contact vingt-quatre heures, puis on décante le liquide et on le remplace par de l'alcool stérile à 70, 80 ou 90°, sui-

(1) En partant de test-objets ainsi traités, nous avons pu obtenir une culture pure de ce bacille.

vant que l'on désire obtenir un catgut plus ou moins souple. Le tube est fermé à la lampe ou avec un bouchon de caoutchouc stérilisé ; dans ce cas, on paraffine la fermeture.

Ces catguts restent colorés et imprégnés d'iode; ils doivent être utilisés assez rapidement, car à la longue ils perdent de leur solidité.

Si l'on veut obtenir des catguts ne contenant plus d'iode libre, on doit, après enlèvement du liquide iodé, les traiter par une solution stérile d'hyposulfite de sodium et carbonate de sodium. On laisse en contact douze heures, puis on décante cette solution, que l'on remplace par de l'alcool stérile. On termine comme précédemment. Le catgut est blanc, légèrement jaunâtre, et renferme de l'iodure de potassium que l'on peut déceler par les réactifs habituels.

La préparation de ce catgut à l'iode demande beaucoup de soins, surtout pour la seconde méthode qui comporte plusieurs manipulations en tube ouvert.

Nous avons vérifié l'action stérilisante de l'iode sur les cordes commerciales, les cordes faites avec des boyaux, et sur les cordes infectées avec ce que nous appelons pour commodité « bouillon de terre ».

Les solutions employées au cours des manipulations sont les suivantes :

Solutions iodo-iodurées.

Solution à 1 p. 100.		*Solution à 0,50 p. 100.*	
Iode	1 gr. »	Iode	0 gr. 50
Iodure de potassium	2 gr. »	Iodure de potassium	1 gr. »
Alcool à 90°	20 gr. »	Alcool à 90°	20 gr. »
Eau distillée. . q. s. p.	100 gr. »	Eau distillée. . q. s. p.	100 gr. »

Solution d'hyposulfite et carbonate de sodium.

Carbonate de sodium	10	grammes.
Hyposulfite de sodium	10	—
Eau distillée	980	—

Les test-objets sont laissés des temps variables dans les solutions iodées, puis retirés et mis dans des tubes à essais contenant la solution stérile d'hyposulfite et de carbonate de sodium, jusqu'à décoloration. On remplace ensuite cette solution par du bouillon que l'on renouvelle au bout de 24-48 heures, si cela est nécessaire.

Action de la solution iodée à 0,50 p. 100.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	12 heures.	1	3	»
	24 heures.	1	....	Stériles.
	48 heures.	2	....	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	12 heures.	1	3	»
	24 heures.	2	4	»
	48 heures.	3	5	»
	4 jours.	5	6	»
	8 jours.	9	....	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans le « bouillon de terre ».	12 heures.	29	1	»
	24 heures.	29	1	»
	48 heures.	30	2	»
	3 jours.	31	3	»
	4 jours.	1	5	»
	6 jours.	3	6	»
	10 jours.	8	13	»
	15 jours.	13	19	»
	20 jours.	19	....	Stériles.

Action de la solution iodée à 1 p. 100.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	12 heures.	1	3	»
	24 heures.	1	....	Stériles.
	48 heures.	2	....	Stériles.
Cordes préparés avec des boyaux, au laboratoire.	12 heures.	1	3	»
	24 heures.	2	4	»
	48 heures.	3	5	»
	4 jours.	5	6	»
	8 jours.	9	....	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans le « bouillon de terre ».	12 heures.	29	1	»
	24 heures.	29	1	»
	48 heures.	30	2	»
	3 jours.	31	3	»
	4 jours.	1	5	»
	6 jours.	3	6	»
	10 jours.	8	13	»
	13 jours.	13	20	»
	20 jours.	19	....	Stériles.

Conclusions. — La stérilisation des cordes commerciales « bien préparées » par une solution iodée demande un minimum de 24 heures.

La stérilisation des cordes infectées est longue et ne peut être obtenue qu'au bout de 15 à 20 jours.

Le titre de la solution en iode est moins important que la durée du contact avec la solution iodée.

Stérilisation par les essences.

L'immersion des cordes dans les essences peut conduire à leur stérilisation. On a très souvent recommandé l'essence de genièvre, mais nous avons très rapidement constaté que ce liquide était insuffisant et avons alors employé l'eucalyptol qui se trouve en abondance et à un prix relativement abordable. Les deux tableaux suivants montrent la différence de cette action.

Les bobines sont laissées en contact avec le liquide pendant un laps de temps variable, puis mises dans un vase stérile avec de l'éther anhydre. On remplace l'éther deux fois. On porte ensuite en bouillon peptone Martin, que l'on renouvelle au bout de quelques jours. S'il ne s'est pas produit de culture, on met quelques tubes en culture anaérobie (vide avec lavage à l'hydrogène) et l'on porte quelques test-objets en gélose Veillon.

Action de l'essence de genièvre.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES (*) de la mise EN BOUILLON	DATES de la culture DU BOUILLON	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	2 jours.	5	8	»
	4 jours.	5	10	»
	6 jours.	8-13	15	»
	8 jours.	10-13	....	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans bouillon de tétanos, vibrion septique et staphylocoque.	2 jours.	7	8 en aérobie et anaér.	»
	4 jours.	10	13 *id.*	»
	8 jours.	15	18 *id.*	»
	12 jours.	20	24 *id.*	»
	20 jours.	28	31 *id.*	»

(*) Le second et le troisième chiffre indiquent les dates de renouvellement du bouillon.

Action de l'eucalyptol.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	2 jours. 4 jours. 6 jours.	3-4 5-6 7-20-22	7 8	» » Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans bouillon de tétanos, vibrion septique et staphylocoque.	2 jours. 4 jours. 8 jours. 12 jours.	7 10-20-22 13-20-22 20-22	9 aérobie et anaérobie. *id.* *id.* *id.*	» Stériles. Stériles. Stériles.

De ces premiers essais, il ressort que l'eucalyptol est un excellent liquide pour obtenir une stérilisation des catguts. Toutefois, son action est plus lente lorsqu'on le fait agir sur des spores situées à l'intérieur même de la corde, surtout lorsqu'elles sont très résistantes, comme celles du *B. mesentericus*.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	2 jours. 4 jours. 6 jours.	24-25 25-27 2-4	26 aérobie. 26 gél. Veillon. 28 gél. Veillon. ....,......	» » Stériles.
Cordes préparées avec des lanières stériles et infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	2 jours. 4 jours. 8 jours.	19-20 21-22 26-28	21 aérobie. 21 gél. Veillon. 23 aérobie. 23 gél. Veillon.	» » Stériles.
Cordes commerciales infectées avec du « bouillon de terre ».	2 jours. 4 jours. 8 jours. 15 jours. 20 jours.	6-8 8-9 12-15 13-20-25 24-25-30	9 aérobie. 11 anaérobie. 10 aérobie. 12 anaérobie. 20 aérobie. 30 1 tube gél. Veillon.	» » » » Stériles.

L'action de l'eucalyptol dépend plus de sa facilité de pénétration à l'intérieur de la corde que de la nature de la spore. 5 à 6 jours paraissent suffisants pour stériliser la corde commerciale bien préparée, mais la durée de contact va en augmentant avec les cordes infectées. Il est bien évident toutefois que l'action de l'eucalyptol sera plus rapide sur des spores dont la paroi aura été modifiée par des macérations prolongées dans la solution de carbonate de sodium ou de soude caustique.

On peut démontrer cette action retardatrice, due à la difficulté de pénétration de la corde, par les expériences suivantes. Du papier filtre est enroulé de façon à obtenir trois ou quatre épaisseurs superposées ; on coupe ces rouleaux de papier de façon à former de petits tubes de 4 à 5 centimètres de longueur, maintenus enroulés par une ligature au fil de lin. Ces test-objets sont infectés en transportant au moyen d'une pipette effilée des cultures très riches en spores entre les diverses épaisseurs du papier. On laisse sécher à l'étuve à 37 degrés. Ce sont ces tubes de papier que l'on plonge dans l'eucalyptol et que l'on transporte en bouillon peptone Martin, gélose Veillon, après un lavage suffisant à l'éther. On peut voir qu'un contact de quelques jours suffit pour détruire les spores les plus résistantes, comme celle de *B. mesentericus*.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Tubes de papier infectés avec une culture de tétanos.	2 jours.	20-23	22 aérobie. 25 gélose Veillon.	»
	4 jours.	22-23	30 gélose Veillon.	»
	6 jours.	28-29	....	Stériles.
Tubes de papier infectés avec « bouillon de terre ».	2 jours.	20-23	25	»
	4 jours.	22-23	....	Stériles.
	6 jours.	24-29	....	Stériles.

Conclusions. — La corde commerciale « bien préparée » est facile à stériliser par un court séjour dans les essences. L'eucalyptol, principe constitutif de l'essence d'eucalyptus, se montre

plus particulièrement actif. Une immersion de quelques jours suffit pour rendre la corde stérile.

Pour une corde infectée, le séjour doit être prolongé ; mais peut-on admettre qu'au bout de 15 ou 20 jours une corde de grosseur moyenne, préparée avec des boyaux ou infectée avec *B. mesentericus* sera rendue stérile? L'action de l'eucalyptol semble efficace, quoique retardée par la résistance qu'offre la corde à la pénétration de l'essence. Nous n'oserions affirmer qu'il en sera de même dans tous les cas.

L'essence de genièvre s'est montrée peu active ; — aussi son emploi, souvent préconisé, doit être rejeté.

Stérilisation par tyndallisation.

La méthode de tyndallisation employée par le Service de Santé militaire consiste en un chauffage discontinu de dix heures par jour, pendant cinq jours, à la température de 60 degrés, dans l'alcool à 90°. Les bobines sont introduites dans les tubes stérilisés au four à flamber, et recouvertes d'alcool.

Tyndallisation dans l'alcool à 90°.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	5 jours.	30-31	»	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	5 jours.	30-31	6	»
Cordes préparées avec des lanières stériles et infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	5 jours.	30-31	»	Stériles.
Cordes infectées avec « bouillon de terre ».	5 jours.	21-24	28 en aérobie. 5 gélose Veillon.	»
	10 jours.	31	4 *id.*	»

Les tubes, après fermeture à la lampe, sont plongés dans un bain-marie maintenu à la température constante de 60 degrés. C'est cette méthode que nous avons suivie pour nos essais de stérilisation, qui ont porté sur des cordes infectées de différentes façons.

Après stérilisation, les test-objets sont retirés et déposés dans des tubes de bouillon. On renouvelle le bouillon une ou plusieurs fois, si cela est nécessaire et, comme précédemment, on fait des cultures en anaérobie (vide et lavage à l'hydrogène) et en gélose Veillon.

On voit que la tyndallisation est suffisante pour stériliser des cordes commerciales, et même pour des cordes fortement infectées, mais échoue lorsqu'on se trouve en présence de spores très résistantes. Toutefois, la vitalité de ces spores est fortement atteinte, puisque leur développement est lent à se produire. Nous avons répété ces essais de nombreuses fois, mais nous ne sommes jamais arrivé à un résultat satisfaisant. Au bout d'un temps plus ou moins long, les tubes finissaient toujours par cultiver en partie ou en totalité. En prolongeant la tyndallisation pendant dix jours, on n'arrive pas davantage à une stérilisation complète. On obtient de meilleurs résultats en ajoutant à l'alcool 10 à 20 p. 100 d'eucalyptol. Nos essais de stérilisation par tyndallisation en milieu alcoolique eucalyptolé ont presque toujours été positifs pour la corde commerciale infectée par immersion dans le bouillon de terre.

Il n'est pas possible de diminuer le titre alcoolique sans amener une diminution notable de la solidité de la corde.

D'autre part, on ne peut se servir d'alcool à un titre supérieur à 90°, dans le but de pratiquer la tyndallisation à une température plus élevée, sans nuire à la souplesse du catgut. Cette modification se ferait d'ailleurs au détriment de la stérilisation, et l'on courrait le risque d'avoir des produits non stériles. C'est ainsi que les expériences de tyndallisation avec des liquides anhydres nous ont montré le rôle indispensable de l'eau.

Par contre, de bonnes cordes commerciales sont parfaitement stériles après une tyndallisation de cinq jours dans les liquides anhydres. Nous avons encore ici un exemple frappant de la

facilité avec laquelle on peut obtenir la stérilisation des cordes bien préparées.

Tyndallisation de cinq jours dans les liquides anhydres.

NATURE DES OBJETS	NATURE du LIQUIDE	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	30-31	5 aérobie. 5 gélose Veillon.	»
Cordes préparées avec lanières stériles, puis infectées avec tétanos, au moment de la torsion.	Alcool à 100°.	30-31	2 aérobie. 10 gélose Veillon.	»
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	5	6	»
	Benzine.	5	6	»
	Acétone.	5	6	»
	Chloroforme.	5	6	»

Conclusions. — La tyndallisation est un excellent procédé de stérilisation des cordes. Les cordes commerciales « bien préparées » sont parfaitement stériles après cinq jours. Pour les cordes fortement infectées, la méthode de tyndallisation n'est pas suffisante, même en prolongeant le temps de chauffe.

On peut obtenir des résultats meilleurs en opérant avec de l'alcool eucalyptolé. L'alcool doit contenir le plus d'eau possible, car la stérilisation par tyndallisation ne peut être obtenue avec des liquides anhydres. Toutefois le titre de l'alcool ne peut être abaissé au-dessous de 90° sans produire une diminution notable de la solidité.

Stérilisation par la chaleur en liquides anhydres.

La stérilisation par la chaleur en liquide anhydre se fait au-dessus de 100 degrés. A cette température, l'emploi de liquide anhydre est indispensable, car en milieux même légèrement aqueux, la corde serait transformée en gélatine. Les

liquides que l'on emploie couramment sont : l'alcool absolu, le chloroforme, l'acétone, la benzine. Nous avons employé des liquides rigoureusement anhydres : alcool absolu distillé de l'alcoolat de baryte au moment du besoin, benzine, acétone, chloroforme, redistillés et séchés sur sulfate de soude et filtrés au moment de l'emploi. Dans certaines expériences nous avons préparé les mêmes liquides légèrement hydratés. L'alcool absolu et l'acétone préparés précédemment ont été additionnés de 1 p. 100 d'eau. La benzine et le chloroforme ont été saturés d'eau par agitation avec un excès de ce liquide. L'emploi de ces liquides légèrement aqueux semble donner de meilleurs résultats au point de vue stérilisation, mais est désastreux pour la solidité de la corde.

Les bobines introduites dans le tube plongent complètement dans le liquide et le tube fermé à la lampe est mis directement dans l'autoclave.

Stérilisation à 120 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des liquides ANHYDRES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	Alcool absolu.	10-16	....	Stériles.
	Acétone absolu.	15-16	....	Stériles.
	Chloroforme.	15-16	....	Stériles.
	Benzine.	15-16	....	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool absolu.	1-3	5	»
	Acétone absolu.	1-3	5	»
	Chloroforme.	1-3	5	»
	Benzine.	1-3	5	»
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool absolu.	2-3	6	L'alcool absolu, additionné de 1 p. 100 d'eau, se comporte comme l'alcool absolu.
	Acétone absolu.	2-3	6	
	Chloroforme.	2-3	6	
	Benzine.	2-3	6	

La température de 120 degrés n'est pas suffisante pour tuer des spores résistantes. Un second chauffage de une heure à 120 degrés pratiqué vingt-quatre heures après le premier (catgut

polyautoclavé) ne nous a pas donné de meilleurs résultats : la série des 4 test-objets a donné des cultures en bouillon au bout de trois jours. Nous avons donc opéré à une température plus élevée : 127 degrés.

Stérilisation à 127 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des liquides ANHYDRES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	15-16	18	»
	Alcool à 99°.	15-16	19	Un échant. est resté stérile.
	Acétone absolu.	15-16	18	»
	Acétone à 99°.	15-16	19	»
	Chloroforme.	15-16	17	»
	Chlorof. aqueux.	15-16	19	»
	Benzine.	15-16	17	»
	Benzine aqueuse.	15-16	17	»
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	15-16	....	Stériles.
	Chloroforme.	15-16	....	Stériles.
	Acétone absolu.	15-16	20	»
	Benzine.	15-16	18	»

Une expérience semblable faite en employant l'alcool et l'acétone absolus additionnés de 1 p. 100 d'eau, et le chloroforme et la benzine saturés d'eau nous ont donné le même résultat. Les test-objets traités par le chloroforme, la benzine et l'acétone, n'ont pu être stérilisés à cette température ; un échantillon traité à l'alcool est resté stérile.

Par un second chauffage de une heure à 127 degrés, vingt-quatre heures après le premier, les cordes mises dans le chloroforme (1) étaient stériles, les autres ont donné des cultures. Devant cet insuccès, nous avons alors porté la température à 134 degrés.

Le traitement à la benzine n'est pas donc suffisant pour assurer la stérilisation par un chauffage d'une heure. Il ne l'est pas toujours après un second traitement semblable.

(1) Pendant la fermeture des tubes au chalumeau, il y a toujours production d'un peu d'acide chlorhydrique qui intervient probablement pour faciliter la stérilisation.

Stérilisation à 134 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	12-13	....	Stériles.
	Chloroforme.	12-13	....	Stériles.
	Acétone.	12-13	17	»
	Benzine.	12-13	17	»

Conclusions. — La stérilisation des cordes commerciales « bien préparées » par chauffage en milieu anhydre est facile. Elle se fait à la température de 120 degrés maintenue pendant une heure; avec les cordes infectées il faut porter la température à 127 ou 134 degrés suivant le liquide employé. L'alcool est préférable, puis le chloroforme, enfin l'acétone. L'emploi de la benzine n'est guère recommandable. La technique qui consiste à stériliser deux fois après un intervalle de vingt-quatre heures ne présente pas de bien grands avantages.

Stérilisation par la chaleur dans les vapeurs de liquides anhydres.

Dans cette méthode, au lieu de faire plonger complètement les bobines dans les liquides stérilisants, on verse VIII à X gouttes de ces liquides sur un tampon de coton placé au fond du tube de verre. Les tubes, fermés à la lampe, sont traités comme précédemment. Cette méthode a déjà été employée par Répin (1) sur les indications de M. Roux. Il opérait uniquement avec l'alcool. Nous avons opéré avec l'alcool et l'acétone absolus et avec les mêmes liquides additionnés de 1 p. 100 d'eau, avec la benzine et le chloroforme séchés sur sulfate de soude et les mêmes solvants saturés d'eau.

La température de 120 degrés n'est pas suffisante pour obtenir une stérilisation absolue. Un second traitement pratiqué vingt-quatre heures après le premier reste tout aussi inefficace.

(1) Répin, Un procédé sûr de stérilisation du catgut. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, p. 170-177, 1894.

Stérilisation à 120 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	Alcool à 100°.	15-16	....	Stériles.
	Acétone absolu.	15-16	....	Stériles.
	Chloroforme.	15-16	....	Stériles.
	Benzine.	15-16	....	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	2-3	5	»
	Acétone absolu.	2-3	5	»
	Chloroforme.	2-3	5	»
	Benzine.	2-3	5	»
Cordes commerciales infectées avec du « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	2-3	5	»
	Acétone absolu.	2-3	5	»
	Chloroforme.	2-3	5	»
	Benzine.	2-3	5	»

Nous avons donc refait les mêmes expériences à 127 et à 134 degrés.

Stérilisation à 127 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec du « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	15-17	....	Stériles.
	Chloroforme.	15-17	....	Stériles.
	Acétone absolu.	15-17	19	»
	Benzine.	15-17	19	»

La benzine et l'acétone ne donnent pas de meilleurs résultats par un second traitement effectué dans les mêmes conditions; on a alors opéré à 134 degrés avec différentes cordes.

Un second chauffage d'une heure à 134 degrés, vingt-quatre heures après le premier, ne suffit pas toujours à rendre les test-objets stériles.

Stérilisation à 134 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13	 16	Stériles. »
Cordes préparées avec des lanières stériles, puis infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13	 16	Stériles. »
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13	 14	Stériles. »

Conclusions. — L'emploi des vapeurs de liquides anhydres semble préférable à celui des liquides eux-mêmes. Peut-être que les vapeurs, ne rencontrant pas ici une masse de liquide interposée jouant un rôle protecteur, pénètrent plus facilement à l'intérieur de la substance.

Les cordes commerciales « bien préparées » sont stérilisées à 120 degrés pendant une heure ; les cordes infectées demandent une température de 127 ou 134 degrés, suivant les liquides. L'emploi de l'alcool est préférable; celui de la benzine est à rejeter. La technique consistant en deux stérilisations successives, avec intervalle de vingt-quatre heures, n'est pas très recommandable.

DEUXIÈME PARTIE

Des expériences précédentes il résulte très nettement que les *cordes commerciales* « bien préparées » sont très faciles à stériliser par les diverses méthodes employées : action de l'iode, des essences, tyndallisation et stérilisation par la chaleur sous pression dans les liquides ou vapeurs anhydres.

Il n'en est plus de même lorsqu'on essaie les mêmes méthodes sur une *corde infectée* avec des bacilles à spores résistantes. On voit que dans ces conditions les limites que l'on s'était assignées pour obtenir la stérilisation doivent être reculées, et l'on peut même hésiter à fixer ces limites.

Il ne nous est guère possible de dire quelle est la méthode que l'on doit préférer. Ni l'iode, ni l'eucalyptol, ni la tyndallisation, ni la stérilisation en liquides ou vapeurs anhydres ne nous donnent un résultat satisfaisant. Dans nos essais, nous avons pu obtenir la stérilisation complète, mais ces expériences, répétées plusieurs fois, il est vrai, n'ont porté chaque fois que sur trois ou quatre échantillons. Nous ne pouvons donc pas savoir comment se comporteraient ces méthodes dans des milliers de cas.

Puisque la stérilisation de la corde commerciale est si facile, alors que celle des cordes infectées est si difficile, à quoi cela tient-il? C'est donc que les traitements auxquels les boyautiers soumettent les boyaux sont suffisants pour détruire une grande partie des bactéries et diminuer la résistance des spores par une sorte de mordançage de leur paroi. En fait, l'immersion prolongée dans la solution de carbonate de sodium et surtout de soude, indispensable pour pouvoir racler plus facilement la muqueuse interne, est suffisante pour éliminer et détruire une grande partie des microbes. Nous avons pu isoler des boyaux, avant tout traitement chimique, huit micro-organismes dont trois anaérobies; le même boyau, après traitement au carbonate de sodium, ne contient plus que deux anaérobies et deux aérobies. Le coli, abondant dans le premier cas, faisait presque défaut dans le second où, par contre, le *B. subtilis* pullulait.

Enfin, les boyaudiers ont l'habitude de laisser les lanières dans l'eau oxygénée pendant quelques heures et de les soumettre à l'action de l'acide sulfureux. Ce traitement, qui vise plus l'obtention d'une corde de belle qualité que sa stérilisation complète, n'est pas sans action sur la flore bactérienne des boyaux. Nous avons trouvé des lanières qui, traitées de cette façon, ne contenaient plus d'anaérobies et très peu d'aérobies.

Pourquoi alors ne pas faire subir aux lanières un traitement chimique suffisant pour amener leur stérilisation complète?

On aurait alors une corde commerciale presque stérile, ou tout au moins qui ne serait plus souillée que par les micro-organismes de l'air et des mains. En tout cas, ces cordes ne seraient plus infectées en profondeur, et l'obtention du catgut se réduirait à une stérilisation *en surface* des cordes ainsi préparées.

Il nous a semblé que les efforts des fabricants de catguts devraient tendre vers l'obtention de cordes stériles, bien plus qu'à l'application de méthodes de stérilisation chimiques ou physiques à des cordes commerciales préparées un peu au hasard.

Nous avons donc fait quelques essais pour déterminer les conditions nécessaires pour amener une stérilisation complète des lanières. On a employé :

1° Une solution d'hypochlorite de sodium à 100 milligrammes de chlore actif par litre ;

2° La même solution, rendue acide par addition d'acide acétique ;

3° L'eau iodée à 1/1000 ;

4° L'eau oxygénée au 1/3, neutralisée par du borate de sodium ;

5° L'acide chromique à 5/1000 ;

6° La solution de fluorure de sodium à 10/1000 ;

7° La solution de formol à 5 et 10 p. 100 ;

8° La solution d'acide sulfureux à 10/1000.

Les boyaux, transportés intentionnellement sans précautions spéciales, sont fendus (1), raclés, puis plongés dans des quantités suffisantes de liquides antiseptiques. On a prélevé des fragments au bout de quatre, six, vingt-quatre heures.

Ceux-ci, transportés dans des boîtes de Petri stériles, sont traités par des liquides appropriés (hyposulfite, carbonate, etc.) pour enlever l'excès du réactif. On les porte ensuite en bouillon peptone Martin et gélose Veillon, après les avoir débarrassés de l'hyposulfite, du carbonate, par un contact de quelques heures dans l'eau distillée stérilisée.

(1) Certains boyaudiers font les grosses cordes en tordant les boyaux non fendus; c'est là une pratique déplorable, qui peut être bonne pour la fabrication des cordes d'instruments de musique, mais qui ne devrait pas être employée pour les cordes destinées à la chirurgie. On conçoit très bien que l'action des solutions chimiques ne peut se produire dans ces conditions.

NATURE ET TITRE des SOLUTIONS	TEMPS de CONTACT	RÉSULTAT DES CULTURES	OBSERVATIONS
Chlore 100 mgr. par litre en milieu non acidifié.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières gonflées et gélifiées à la surface. Paraissent peu résistantes mais peuvent cependant être tordues facilement.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon — 1 cultive.	
Chlore 100 mgr. par litre en milieu acidifié par l'ac. acétique.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultive (*). 2 t. G. Veillon. »	Lanières résistantes à surface non gélifiée.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Eau iodée à 1/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultive. 2 t. G. Veillon — 1 cultive.	Lanières paraissant plus résistantes qu'avant le traitement. Surface un peu sèche.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Eau oxygénée au 1/3 neutralisée par le borate de sodium.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 1 cultive.	Lanières très blanches un peu gonflées et gélifiées.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Acide chromique à 5/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultive. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières très résistantes semblent tannées. Surface sèche.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Formol à 5 p. 100.	6 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	»
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Acide sulfureux à 10/1000	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières gélifiées et peu résistantes surtout au bout de 24 heures.
	24 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	
Fluorure de sodium à 10/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	»
	24 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	

(*) Après trois jours.

Dans le tableau ci-contre (p. 24), nous résumons le résultat de ces recherches au bout de six et vingt-quatre heures. Dans la colonne « observations » nous mettons les indications concernant l'état physique de la lanière ainsi traitée.

Des lanières, stérilisées par un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau oxygénée au tiers, ont été réinfectées par immersion de vingt-quatre heures dans un bouillon de tétanos riche en spores, puis traitées par les réactifs précédents.

L'action antiseptique de ces solutions s'est confirmée en ce qui concerne la différence d'action du chlore en milieu acide ou légèrement alcalin.

Chlore 100 mg/1000 milieu non acidifié.	Non stériles après 6 heures; stériles après 24 heures.
Chlore 100 mg/1000 milieu acidifié . . .	Stériles après 6 heures.
Eau oxygénée.	Stériles après 6 heures.
Eau iodée à 1/1000	Stériles après 6 heures.
Acide chromique 5/1000.	Stériles après 6 heures.
Formol 5 p. 100	Stériles après 6 heures.
Fluorure de sodium 10/1000	Non stériles après 24 heures.

Les meilleurs procédés pour obtenir des lanières stériles sont ceux à l'eau oxygénée, à l'eau iodée, au formol et à l'acide chromique. Ces deux derniers sont à rejeter, car ils donnent des catguts non résorbables ou très difficilement résorbables. D'ailleurs les cordes préparées avec des lanières traitées par l'acide chromique ne sont pas homogènes. La surface de ces lanières est trop sèche et la corde semble formée de fils accolés, ne présentant entre eux qu'une faible adhérence.

Les cordes les plus belles d'aspect sont obtenues avec l'eau oxygénée ou le chlore en milieu non acidifié. La gélification qui se produit à la surface des lanières, et qui nuit à la stérilisation en empêchant le chlore de pénétrer à l'intérieur du tissu, est, par contre, la cause de cet avantage. Pendant la torsion, les lanières sont agglomérées, collées en quelque sorte par cette gelée, et forment une corde homogène présentant une plus grande résistance.

Il est bien évident que cette qualité pourrait se conférer à des lanières préalablement stérilisées à l'iode, l'eau oxygénée, etc. ; il suffirait pour cela de les plonger pendant quelques heures seulement dans la solution d'hypochlorite. De

même, les avantages que certains chirurgiens demandent à des catguts légèrement chromés s'obtiendraient par un séjour très court, dans l'acide chromique, des lanières stérilisées par un autre agent chimique. On conçoit même que l'on puisse faire varier à l'infini les substances qui agiraient, soit pour amener la stérilisation des lanières, soit pour donner aux catguts des propriétés toutes spéciales. Il y a là un large champ laissé à l'initiative des fabricants d'objets de pansement.

Nous avons essayé la résistance des cordes préparées avec ces lanières stériles, car on pouvait craindre que les traitements prolongés par des substances chimiques ne diminuent considérablement leur solidité.

Au sortir des solutions antiseptiques, les lanières sont débarrassées de l'excès de réactifs : par macération dans une solution d'hyposulfite et de carbonate de sodium jusqu'à décoloration, puis lavage prolongé à l'eau pour les produits traités par le chlore ou l'iode; par une solution de carbonate de sodium et lavage à l'eau pour les lanières à l'eau oxygénée; par une solution faible de bisulfite et de carbonate de sodium, avec lavage à l'eau pour le traitement à l'acide chromique; par un lavage à l'eau très légèrement ammoniacale pour les lanières formolées. Ces lanières ont été tordues avec des moyens de fortune, et tous les fabricants de catguts qui les ont examinées les ont trouvées plus résistantes que les cordes commerciales ordinaires. D'ailleurs leur résistance, essayée au dynamomètre Van Ackère et Brunner, sur une longueur de 50 centimètres, a donné les résultats suivants :

NATURE DE LA CORDE	DIAMÈTRE	N° DE LA CORDE	RÉSISTANCE	RÉSISTANCE des cordes commerciales d'après DEBUCHY.	ÉLASTICITÉ
Cordes au chlore alcalin.	0mm50	1	5 kil. 500	3 kil. 500	5 cent. »
Cordes au chlore acide.	0mm60	2	9 kil. »	7 kil. 500	9 cent. »
Cordes à l'iode.	0mm60	2	8 kil 500	7 kil. 500	8 cent. »
Cordes à l'eau oxygénée.	0mm60	-	8 kil. »	7 kil. 500	8 cent. »
Cordes à l'acide chromique.	0mm50	1	6 kil. »	8 kil. 500	9 cent. 50
Cordes au formol.	0mm60	2	6 kil. »	7 kil. 500	5 cent. 50

Devant ces résultats encourageants, nous avons entrepris la fabrication des cordes sur une plus grande échelle et avec des moyens plus appropriés.

Les boyaux étaient prélevés aussitôt l'animal tué, et immédiatement mis dans une glacière portative, permettant leur transport au laboratoire dans les meilleures conditions. Cette précaution a surtout pour but d'éviter le développement des bactéries et la production des spores. En outre, elle arrête l'autolyse des tissus et leur digestion par les trypsines microbiennes. C'est uniquement à ces actions digestives que certaines cordes commerciales doivent leur peu de solidité.

Les boyaux transportés au laboratoire sont traités le plus tôt possible. Ils sont fendus, puis raclés et mis dans la solution antiseptique choisie. Ils sont alors transportés dans une autre pièce et manipulés par un personnel différent, de façon à éviter une réinfection possible au cours des manipulations postérieures à leur stérilisation. Ils sont tordus, séchés et polis dans une pièce non poussiéreuse et facile à nettoyer (1).

Les cordes ainsi préparées sont roulées comme d'habitude et enfermées dans des bocaux bouchant à l'émeri. Nous évitons de les huiler, puisque le pharmacien est obligé, dans le cours des manipulations, d'effectuer un traitement long et coûteux pour enlever cette huile (2). (A vrai dire, nous ne savons si cette modification est heureuse et s'il n'est pas nécessaire d'huiler la corde pour assurer sa conservation). Nos cordes ont été transformées en catguts peu de temps après leur fabrication, et les pharmaciens auraient, croyons-nous, tout intérêt à suivre cette pratique.

Conclusions. — La préparation des cordes solides et stériles peut se faire en recueillant les boyaux le plus tôt possible après la mort de l'animal et en les conservant dans certaines condi-

(1) En opérant de cette façon et manipulant les lanières stériles avec des gants de caoutchouc stérilisés, nous avons pu préparer une corde à l'iode complètement aseptique. Après vingt-quatre heures de séjour dans la pièce on a prélevé 15 centimètres de cette corde, et l'on a ensemencé 5 à 6 tubes de bouillon et 5 à 6 tubes de gélose Veillon. Un seul tube de bouillon nous a donné une culture de *B. subtilis*. Cette expérience toute théorique montre jusqu'à quel degré de perfectionnement peut être poussée la fabrication des cordes pour catguts.

(2) Les lanières renferment environ 1,50 à 2 p. 100 de matière grasse ; les cordes commerciales près de 3 p. 100.

tions pour éviter un commencement de digestion fermentaire ou autolytique des tissus. Le froid peut remplir ce rôle, en même temps qu'il empêchera le développement des microbes et la formation des spores.

Un traitement chimique approprié peut conduire à l'obtention de lanières stériles, avec lesquelles les cordes seront préparées. Ces fils à ligature ne seront plus infectés qu'à leur surface au cours des manipulations ultérieures et leur stérilisation sera rendue de ce fait beaucoup plus facile.

Il y aura lieu de séparer complètement l'atelier de préparation des boyaux de l'endroit où se pratiquera le traitement chimique des lanières et la fabrication de la corde, pour éviter toute cause possible de réinfection.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° La préparation d'un catgut *stérile* et *solide* dépend plus de la fabrication de la corde que des moyens mis en œuvre pour assurer la stérilisation de cette corde une fois terminée. Avec une corde bien préparée, et en prenant toutes les précautions indispensables pour éviter une réinfection des boyaux par contact, la préparation d'un catgut stérile est facile à obtenir par les différents procédés précédemment étudiés. Avec une corde infectée, la stérilisation est très difficile. On peut même conclure que *sans cordes bien préparées* (1) il n'est pas de catguts stériles.

2° Les infections secondaires dues aux catguts et constatées par les chirurgiens proviennent de ce qu'une corde, un fragment de corde, a été réinfecté au cours de sa fabrication par contact avec un matériel ou des matériaux qui n'ont pas subi l'action des agents chimiques employés au traitement des lanières. Ainsi s'expliquent les contestations entre chirurgiens et pharmaciens au sujet des catguts : les premiers récriminant pour un fil qui a produit une suppuration, les seconds faisant remarquer que les autres catguts du même lot de fabrication ne produisent aucun accident (2).

(1) Sous la dénomination de « bien préparées » nous entendons une corde faite en se conformant aux notions élémentaires d'asepsie bactériologique.

(2) Nous ne parlerons pas des infections secondaires dues à des fautes de technique, comme par exemple l'oubli de flamber la surface du tube avant sa rupture.

3° Les essais que nous avons faits sur la corde commerciale n'ont donc de valeur que pour le lot de cordes qui a servi à nos expériences.

4° La préparation des cordes à partir des *lanières aseptiques* est la seule solution à donner à cette question. On assurera ainsi la *stérilité* et la *solidité* des catguts. Il est indispensable que cette fabrication des cordes soit faite par les pharmaciens qui assumeront ainsi toute la responsabilité de leur fabrication.

5° A défaut d'une fabrication spécialisée par le pharmacien, les boyaudiers devraient installer, en vue de la préparation des cordes à catguts, un traitement particulier des boyaux. Ceux-ci seraient prélevés aussitôt l'animal tué, et immédiatement mis dans des glacières portatives, permettant leur transport à l'atelier dans les meilleures conditions. Au cours de la même journée, les boyaux seraient complètement traités et les lanières mises dans les solutions antiseptiques ; on *supprimerait ainsi la fermentation* que l'on fait actuellement subir à ces matières. Un séjour de 48 heures dans l'eau oxygénée à 50 p. 100 semble suffisant pour amener la stérilisation des lanières.

A partir de ce moment il est indispensable que les *lanières soient transportées dans un local différent de celui où s'est faite l'opération du raclage*. Elles seraient manipulées (filage et tordage) par *un personnel spécial*, et sur un *matériel imputrescible et facile à désinfecter*. C'est en effet au cours de ces deux manipulations que les cordes sont le plus susceptibles d'être réinfectées; cette partie du travail est celle qui demande la plus grande surveillance.

6° Les cordes ainsi préparées, en se *conformant aux notions élémentaires d'asepsie bactériologique*, pourraient être stérilisées par les diverses méthodes indiquées, savoir :

1° Une immersion de 24-48 heures dans la solution iodée ;

2° Une immersion de 7-8 jours dans l'eucalyptol ;

3° Une tyndallisation de 5 jours à 60°, pendant 10 heures par jour, dans l'alcool à 90° ;

4° Un chauffage à 120° dans des liquides ou vapeurs anhydres, de préférence l'alcool absolu.

Il serait facile d'imaginer d'autres méthodes tout aussi efficaces, tant est facile la stérilisation d'une corde bien préparée.

Pour les cordes infectées, ces limites doivent être considérablement reculées et les considérations pratiques qui interviennent rendent alors l'emploi de ces méthodes presque impossible. Une immersion de 6-8 jours dans une solution iodée risque d'altérer la corde; une immersion de 15-20 jours dans l'eucalyptol n'est guère compatible avec une fabrication un peu importante. La tyndallisation, à moins d'être faite en milieu alcoolique eucalyptolé, n'est pas suffisante, même en prolongeant le temps de chauffe. La stérilisation en liquides ou vapeurs anhydres devra se faire à 127 ou 134° pendant une heure. Ces limites n'ont, d'ailleurs, de valeur que pour les microbes ayant servi à l'infection de nos test-objets; mais, étant donnée la résistance assez grande des spores de *B. mesentericus*, on pourrait admettre, à la rigueur, qu'elles seront suffisantes pour toutes les bactéries (1). Il conviendrait toutefois de répéter ces expériences sur des milliers et des milliers de cas; bien que nos essais renouvelés plusieurs fois aient toujours donné des résultats concordants, nous n'oserions affirmer qu'ils seront positifs pour tous les test-objets mis en expériences. Une spore bien protégée peut parfois résister à l'un des traitements précédents.

Avec des cordes obtenues en suivant nos indications, quelle est la méthode de choix pour la préparation des catguts?

On peut, au point de vue des manipulations, les classer en deux groupes : 1° celles qui nécessitent une manipulation en tube ouvert; 2° celles où la stérilisation se fera en tube fermé. Elles ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Les premières sont les méthodes à l'iode ou à l'eucalyptol. Elles permettent le transport du catgut dans un liquide stérile assouplissant convenablement choisi. Il en est de même de la stérilisation en vapeurs anhydres, à moins de faire cette opération en tube ou en appareil fermé, et d'introduire le liquide assouplissant au moyen de dispositifs particuliers, le plus souvent brevetés.

(1) Il est bien évident qu'elles seraient inefficaces pour une bactérie comme celle qu'a signalée M. Portier. (Résistance aux agents chimiques de certaines races du *B. subtilis* provenant des insectes. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXLI, p. 397, 27 septembre 1915.)

Cette manipulation, consistant à introduire un liquide stérile dans un tube ou à transporter un catgut dans un tube stérile, ne rencontre guère l'assentiment des chirurgiens. Elle n'offre cependant pas de bien grands inconvénients lorsqu'elle est faite par un personnel bien stylé. Elle est bien moins dangereuse que la préparation d'un catgut à partir d'une corde faite en dehors de toute surveillance compétente.

Le meilleur liquide assouplissant est l'alcool ou l'acétone, contenant 20 à 25 p. 100 d'eau et, au besoin, 5 à 10 p. 100 de glycérine.

Le liquide de choix serait certainement le bouillon qui porterait en lui-même la garantie d'une bonne stérilisation, mais son emploi rencontre encore certaines préventions de la part des chirurgiens. Cette solution, préconisée par Répin (1) dans son important travail sur la stérilisation du catgut, serait certainement la meilleure conclusion que l'on puisse donner à cette question du catgut.

Les méthodes de stérilisation en tube fermé sont la tyndallisation et le chauffage en liquides anhydres (alcool, chloroforme, acétone). Ce dernier procédé ne présente pas de grands avantages ; il donne un catgut vrillé peu maniable, et l'on doit lui faire subir une immersion plus ou moins prolongée dans le sérum physiologique, quelques instants avant l'opération.

La tyndallisation est plus recommandable ; l'alcool à 90° donne bien un catgut un peu raide, mais permettant cependant de faire des nœuds sans trop de difficultés, car ce fil s'hydrate très facilement au contact des tissus. D'ailleurs, on peut l'assouplir légèrement par addition de 5 à 10 p. 100 de glycérine anhydre à l'alcool à 90°.

Pour conclure, nous donnons la préférence à cette dernière méthode, pratiquée sur des cordes « bien préparées » ayant subi au préalable une immersion de 7 à 8 jours, à la température ordinaire ou à une température plus élevée, dans l'eucalyptol.

Si les chirurgiens n'étaient pas incommodés par l'odeur d'eucalyptol, nous proposerions encore plus volontiers une

(1) Répin, Un procédé sûr de stérilisation du catgut. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, p. 170-177, 1894.

tyndallisation de 5 jours à 60°, à raison de 10 heures par jour, dans le liquide suivant :

Alcool à 90°	80 grammes.
Glycérine	10 grammes.
Eucalyptol.	10 grammes.

Ils auraient ainsi à leur disposition un catgut stérile et *suffisamment souple*.

Nous avons la conviction qu'en opérant sur des cordes préparées avec des *lanières stériles*, les accidents dus aux catguts disparaîtraient à jamais des salles de chirurgie.

HÉRÉDITÉ DE LA RAGE

(DEUXIÈME NOTE)

par le Dr DANIEL KONRADI,
Professeur agrégé de l'Université, adjoint de l'Institut.

[Travail de l'Institut de pathologie et thérapeutique générale de Kolozsvar (Hongrie),
Directeur : Professeur J. Löte.]

Dans mon travail traitant de cette question, dont le *premier* article a paru en 1904 et le *deuxième* en 1908, j'ai démontré que *la matière infectieuse de la rage se transmet de la mère à l'embryon*. Dans ces deux articles, j'ai fait connaître en détail la bibliographie de la question et j'ai expliqué de quelle manière le virus se communique et quelles transformations il subit pendant ce processus. Si maintenant à la suite de mes nouvelles expériences et observations je m'occupe de cette question une *troisième* fois, l'explication se trouve dans ce fait que la littérature sur le sujet, parue depuis 1908, contient trois communications contradictoires. Parmi ces communications il y en a deux (Dammann et Hasenkamp, et l'une des expériences de Miessner-Kliem et Kapfberger) qui ont, il est vrai, un résultat affirmatif; la troisième (Repetto), par contre, est négative ainsi que la deuxième expérience de Miessner-Kliem et Kapfberger. Cependant elles s'accordent toutes les trois en un point : c'est qu'elles glissent rapidement sur la question sans la trouver digne de l'attention qu'elle mérite. En outre, aucun des auteurs ne prend la peine d'attacher de l'importance aux articles traitant de cette question et parus dans la même revue que les leurs, dans le courant des années antérieures. Si l'auteur qui conclut au résultat négatif (Repetto) l'avait fait, il est plus que probable qu'il aurait disposé autrement son expérience. Mais examinons cette expérience :

Repetto, assistant du professeur Fermi qui dirige l'institut expérimental de l'université de Sassari, rapporte qu'un chien enragé s'est introduit dans une ferme et a mordu 24 moutons. Parmi ceux-ci 14 ont contracté la maladie dans un espace de

25 jours environ. Il y avait parmi les animaux malades des brebis portantes. Dans la corne d'Ammon de la mère, il a trouvé beaucoup de corpuscules de Negri et les deux rats blancs qu'il a inoculés sous la peau avec ces particules de cerveau sont morts de la rage 14 jours après l'inoculation. Dans la corne d'Ammon de l'agneau il n'a pas trouvé de corpuscules de Negri, mais pourtant il a injecté de cette matière et de la moelle épinière sous la peau de deux rats, qui sont restés en vie.

Repetto a aussi recherché le virus dans le lait trait des mamelles, et il en a injecté, sous la peau, à 5 souris blanches, 1 cent. cube à chacune d'elles; toutes les 5 sont restées en vie.

De même il a injecté, sous la peau, du liquide amniotique à 5 souris blanches et à chaque souris de nouveau la quantité de 1 cent. cube; elles sont également restées en vie.

Voilà les expériences à l'aide desquelles Repetto arrive aux conclusions que l'infection de la rage ne se transmet pas de la mère au fœtus comme Pasteur, Celli, De Blasi et Zagari l'ont déjà démontré; — Perroncito, Cavita et Loir ont prouvé le contraire — les corpuscules de Negri, ne pénétrant pas à travers le placenta, ne peuvent se trouver dans le fœtus; de même le liquide amniotique et le lait ne contiennent pas de virus — en ce qui concerne cette dernière matière, Pasteur, Celli, De Blasi et Zagari l'ont déjà déclaré.

En examinant minutieusement la description détaillée de l'expérience, il ressort que Repetto s'est rendu fautif d'une omission importante en n'indiquant pas le temps pendant lequel il a observé les animaux inoculés avec le virus d'agneau. Cependant une longue observation est très importante pour prononcer un jugement exact dans des cas pareils; je l'ai déjà déclaré en 1904 et en 1908, j'ai insisté encore en attirant l'attention sur ce que Galli-Valerio, Remlinger et Joseph Koch ont trouvé nécessaire de dire en faisant allusion à mes expériences. Il faut observer longuement les animaux inoculés parce que le virus de la rage en traversant le placenta perd beaucoup de sa force et que le mal ne se déclare que longtemps après l'injection du virus. L'observation doit surtout être longue quand il s'agit d'injections faites sous la peau comme dans les expériences de Repetto. D'ailleurs on peut affirmer que ce genre d'inoculation n'est pas un moyen

sûr d'infection. Il aurait été désirable que, pour trancher cette question depuis si longtemps en litige, Repetto fît aussi des injections sous la dure-mère, car c'est le plus sûr moyen, surtout dans les cas où il s'agit de juger d'un virus qui a perdu de sa force. Nous connaissons, il est vrai, les expériences que Fermi a faites avec son virus sur des souris, expériences qui ont démontré que le virus de Sassari a donné la rage à toutes les souris inoculées sous la peau du côté gauche; seulement le virus était extrêmement fort, ce que Fermi fait remarquer lui-même. Mais nous savons aussi que d'autres auteurs, comme par exemple Galli-Valerio, n'ont pas obtenu un résultat aussi certain avec des souris; nous pouvons en dire autant en ce qui concerne Schindler.

Nous avons aussi fait quelques essais avec des souris pour nous convaincre si véritablement la souris est un animal favorable pour démontrer facilement et certainement la rage. Le 30 décembre 1912 nous avons inoculé sous la peau trois souris blanches avec du virus de la rage des rues qui, inoculé sous la dure-mère d'un cobaye et d'un lapin, a tué le premier après 17 jours, le deuxième après 19 jours. Parmi les trois souris il n'y en a qu'une qui ait contracté la rage après 22 jours, ce que nous avons vérifié en inoculant un cobaye. La deuxième souris est morte après 5 jours et la troisième, après huit mois, d'une autre infection. Le 17 janvier 1913 nous avons de nouveau inoculé 4 souris sous la peau avec un virus de même force. Il n'y en a que deux qui aient contracté la rage; l'une seulement au bout de 77 jours, l'autre au bout de 88 jours. La troisième a été dévorée par les autres et la quatrième est morte, six mois plus tard, d'une autre infection.

Nous voyons donc que ni l'animal ni le procédé ne donnent des résultats très certains pour l'étude de la rage, car si la souris contracte la maladie, ce n'est que très tard. Voilà pourquoi nous n'avons plus fait de telles expériences et nous avons conservé comme sujets les cobayes qui donnent des résultats précis dans tous les cas, comme nous l'avons déjà démontré en détail dans nos communiqués précédents.

Si nous considérons toutes ces choses, nous pouvons en conclure qu'il ne peut être tenu compte de l'expérience de Repetto pour trancher cette question. Cette expérience ne prouve rien

du tout; c'est pourtant grand dommage que son auteur n'ait pas profité d'une occasion si rare et en même temps si précieuse.

La deuxième expérience est celle qui résulte des observations faites par Dammann et Hasenkamp. Une lapine injectée d'un virus fixe mettait bas trois petits juste au moment où les premiers symptômes de la rage se manifestaient. Ces petits périrent trois jours après leur naissance. Dans leurs cerveaux il n'y avait pas de corpuscules de Negri, mais en faisant des inoculations intermusculaires avec la matière cérébrale de ces petits, les auteurs purent produire la rage. D'où il paraît — déclarent-ils — que la transmission de la rage de la mère au fœtus est possible. Ainsi, la question n'est pas mise assez en évidence, elle n'est énoncée que comme « possible ».

La troisième expérience est celle qui résulte des observations de Miessner-Kliem et Kapfberger. Dans une brebis qui est morte de la rage dix jours après avoir été inoculée avec un virus fixe, ils ont trouvé un agneau entièrement développé d'une longueur de 45 centimètres. Deux lapins inoculés sous la dure-mère avec la corne d'Ammon de l'agneau sont morts neuf jours après avec les symptômes caractéristiques de la rage. Dans une autre brebis infectée de la même manière, il y avait un agneau de 27 centimètres dont le cerveau ne contenait pas le virus. C'est tout ce que les auteurs écrivent sur cette question et ils n'indiquent pas même pendant combien de temps ils ont poursuivi leurs observations.

Non seulement ces communications s'occupent superficiellement de la question sans tenir compte des publications nouvelles, mais il en est de même du grand ouvrage collectif de Kolle-Wassermann dont la deuxième édition vient de paraître et dont tous les chapitres sont faits sous forme de monographie. Par exemple, au chapitre VI du premier volume, à la page 662, qui est de la plume de Wassermann et Keysser, il n'y a rien de plus dans cette nouvelle édition en ce qui concerne l'hérédité de la rage que dans la première édition. Pourtant depuis la première édition, parue en 1903, cette question a fait des progrès, comme je l'ai fait remarquer d'ailleurs immédiatement dans une lettre écrite en 1912 à Wassermann, sitôt après l'apparition du chapitre en question. Après cela j'en arrive à mes propres expériences.

Première série.

Le 20 mai 1909, un enfant du nom d'Etienne N..., en traitement à l'Institut Pasteur de Budapest, est tombé malade quinze jours après avoir été mordu et montrait les symptômes de la rage. Il en est mort le 22 mai. Dans le but de faire des expériences, il nous a été expédié une petite quantité de ce virus dans de la glycérine phéniquée. Par suite d'une cause inconnue cet envoi ne nous est parvenu que le 28 mai, c'est-à-dire six jours après la mort de l'enfant. Après avoir débarrassé ce virus de la glycérine et après en avoir fait un ensemencement sur agar-agar sans résultat, nous en avons inoculé à une lapine sous la dure-mère et à deux cobayes profondément à côté de l'épine dorsale. Les cobayes périssaient 23 et 26 jours plus tard de la rage; le 12e et le 13e jour après la lapine indiquait un commencement d'état fiévreux, puis pendant 20 jours consécutifs sa température était redevenue normale. Alors un nouvel accès de fièvre se déclara pendant un jour, puis rien de particulier ne se fit remarquer sur elle jusqu'au 29 juin 1910 où elle périt de la rage, 13 mois après l'inoculation. Cette lapine avait mis bas, 35 jours après l'inoculation, c'est-à-dire le jour après la seconde augmentation de température, trois petits bien développés; cependant malgré tous les soins donnés ils périrent quatre jours plus tard. Le cerveau des petits était assez injecté, mais nous n'y avons pas découvert de corpuscules de Negri. Cependant avec tous les trois nous avons fait des inoculations sous la dure-mère à des lapins et à des cobayes. Nous avons fait aussi des ensemencements sur agar-agar avec chacun d'eux, ce qui nous a persuadé que leur mort n'a pas été causée par une infection étrangère.

23 jours après avoir été injecté avec le virus du premier petit, le cobaye montra pendant une période de cinq jours des symptômes caractéristiques et il succomba à la rage. Le lapin, par contre, resta en vie et pendant quatorze mois d'observation pas le moindre symptôme de rage ne se fit remarquer. Il est possible que, si nous avions pu prolonger l'observation, la rage aurait aussi fait son apparition, mais nous avions besoin du sujet pour une autre expérience.

Le cobaye infecté par le virus du deuxième petit contracta la rage comme le précédent et en fut victime en même temps, c'est-à-dire le 28e jour. Le lapin, par contre, est mort d'une autre infection (pleuro-pneumonie) six mois après l'inoculation. Jusque-là il n'avait pas montré le moindre symptôme de rage.

Le cobaye injecté par le virus du troisième petit tomba malade aussi le 23e jour; mais la période symptomatique ne dura que trois jours. Le lapin prit aussi la rage, mais après un temps extraordinairement long; il n'est mort que 725 jours après l'inoculation. Nous avons trouvé beaucoup de corpuscules de Negri dans sa corne d'Ammon.

Afin de nous rendre compte des transformations subies pendant la longue période symptomatique par le virus provenant du deuxième petit et inoculé au cobaye, nous l'avons transplanté de celui-ci à un autre cobaye et à un lapin, sous la dure-mère. Cette fois aussi le cobaye mourait de pure rage 28 jours après l'inoculation, avec cette différence que la période symptomatique ne dura qu'un jour et non cinq jours comme dans le cas précédent. Le lapin de son côté périssait de la rage pure 539 jours plus tard. Ainsi donc le virus ne s'était pas renforcé, mais — comme je l'ai déjà fait remarquer dans ma première communication et dans la deuxième aussi — il est resté ainsi affaibli dans les inoculations ultérieures.

Cette série prouve donc que, dans les petits mis bas 35 jours après l'inoculation de la mère, et presque un an avant sa mort causée par la rage, on peut démontrer la présence du virus par voie d'inoculation.

Cette expérience montre encore combien le virus provenant de la rage humaine perd de sa force après avoir été pendant six jours dans la glycérine phéniquée.

Deuxième série.

Le 8 juin 1911, nous avons inoculé deux cobayes sous la dure-mère avec un virus qui, après avoir passé à travers une grenouille, a été transmis à un cobaye et ce virus en était déjà à sa neuvième génération. Parmi ces cobayes une femelle a mis bas le 4 septembre trois petits entièrement sains et bien

développés et dont le père, enfermé dans la même cage, était le deuxième cobaye inoculé. Après cela aussi la mère s'est bien portée et ce n'est que le 1[er] décembre, soit 174 jours plus tard, qu'elle périt après une période symptomatique de vingt-quatre heures. La preuve que la rage a causé la mort de la mère se trouve dans ce fait que le cobaye inoculé en même temps qu'elle, est mort le même jour de la rage pure, car nous y avons trouvé beaucoup de corpuscules de Negri. En outre, en continuant l'inoculation sous la dure-mère sur deux cobayes, l'un est mort au bout de vingt-trois jours, l'autre au bout de vingt-sept jours, tous les deux avec les symptômes de la rage; et donnant suite à la série nous avons toujours obtenu le virus pur à travers plusieurs générations.

Ce qui est frappant dans ce cas, c'est la longue incubation de la maladie chez la mère ainsi que chez le père; comme nous l'avons vu, elle a duré 174 jours. Cela est d'autant plus étonnant que le cobaye de la génération précédente et duquel ces deux-ci avaient été inoculés est mort au bout de 38 jours. De même les cobayes inoculés avec leur virus ont succombé dans un temps beaucoup plus court : 23 jours et 27 jours. Nous ne pouvons fournir d'autre explication que la suivante : c'est que les deux sujets en question étaient grands et bien développés — ils pesaient de 700 à 800 grammes chacun — et capables de résister plus longtemps au mal.

Les petits, ayant atteint un état de développement suffisant, furent séparés pour les soustraire à la possibilité d'être mordus par leur père et leur mère dans le cas où la maladie se déclarerait sur eux. C'est à cette fin qu'à l'âge de trois semaines les petits furent placés dans un endroit séparé et soumis à la plus grande surveillance pour empêcher toute contamination possible. Ils se développèrent très bien. Mais examinons les phénomènes de la vie de chacun d'eux.

Le 20 novembre *le premier* pesait 200 grammes et n'avait montré jusque-là rien de suspect; cependant le 26 novembre, c'est-à-dire à l'âge de *84 jours*, il fut pris de tremblements, il était agité et incertain dans son équilibre. Le jour suivant il était paralysé et périt après trois jours de maladie. En examinant son cerveau nous y découvrîmes quantité de corpuscules de Negri. Cette découverte, prouvant à elle seule la présence

de la rage, n'était cependant pas suffisante pour nous; nous fîmes l'inoculation sous la dure-mère de son virus à un cobaye et à un lapin. Le cobaye mourait au bout de 24 jours; le lapin, par contre, résista assez longtemps et ce n'est qu'au bout de 215 jours, après une période symptomatique de 3 jours, qu'il était pris à son tour de la rage pure.

Le deuxième petit pesait aussi 200 grammes le 20 novembre. Le 2 décembre suivant, c'est-à-dire à l'âge de *90 jours*, il périssait de la rage dans des conditions analogues au précédent et aussi après une période symptomatique de 3 jours. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri et nous avons inoculé de son virus à un cobaye et à un lapin sous les méninges. Le cobaye succombait au bout de 20 jours, le lapin au bout de 159; le premier après une période symptomatique de 2 jours, l'autre après une période de 4 jours.

Le troisième petit pesait aussi 200 grammes le 20 novembre. Le 3 décembre, soit à l'âge de *91 jours*, il tombait malade et périssait après une période symptomatique de 2 jours. Comme les précédents il contenait des corpuscules de Negri, mais malgré cela nous injectâmes son virus à un cobaye et à un lapin sous les méninges. Le cobaye prit la maladie au bout de 21 jours, le lapin au bout de 161 jours et ils périrent, le premier, après une période symptomatique de 3 jours, et le second, après une période de 4 jours.

Si nous analysons avec attention les données qui se rapportent aux trois petits, nous y découvrirons plusieurs circonstances dignes d'intérêt et qui demandent peut-être plus d'explications. La toute première a trait à la naissance des petits. Ils sont nés 88 jours après l'inoculation de la mère, temps pendant lequel la maladie était à l'état latent, et 86 jours avant que le mal se déclare chez elle. Et dans ces descendants le virus existait aussi, ce qui est prouvé, non seulement par le mal qui s'est déclaré en eux, mais aussi par la présence des corpuscules de Negri et par l'infection caractéristique qui s'est développée sur les autres sujets inoculés avec leur virus. Pour nous, cette circonstance n'était pas absolument extraordinaire car dans mon deuxième travail sur le même sujet, j'ai fait part d'observations analogues : Une lapine avait mis bas, 18 jours après l'inoculation, mais 9 jours

avant l'apparition du premier accès de fièvre — premier symptôme de la rage, — deux petits vivants qui sont morts dans les 24 heures. Nous avons prouvé chez les petits la présence du virus par inoculation sur d'autres animaux. Les autres symptômes caractéristiques ne se sont présentés sur la lapine en question que beaucoup plus tard; plus tard que chez les cobayes dont nous avons parlé ici et la mort n'est survenue que 487 jours après la naissance des petits. Ainsi *le virus circule pendant un temps très long avant la mort dans le sang de la mère et parvient avec celui-ci à travers le placenta jusqu'au fœtus.* Je ne veux pas examiner à nouveau cette question en détail, mais pour éviter la répétition je me contenterai de renvoyer à mon deuxième travail traitant de cette question et où j'ai développé minutieusement ces circonstances en me basant en partie sur des infections naturelles humaines et en partie sur des expériences.

Une autre circonstance encore plus frappante, c'est que *ces petits aient vécu si longtemps* et qu'ils se soient si bien développés; comme nous l'avons vu, le premier a contracté la maladie à l'âge de *84 jours*, le deuxième à *90 jours* et le troisième à *91 jours*. On peut objecter que les petits ont été infectés de rage après leur naissance, et cela d'autant plus que, parmi les observateurs qui m'ont précédé, aucun n'a pu démontrer la présence du virus dans des descendants ayant vécu un temps si long. Et pourtant je prétends que ce virus vient des parents parce que, comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, toutes les précautions ont été prises, isolement le plus complet dans un lieu absolument propre n'ayant jamais été contaminé par des animaux atteints de rage. J'ai cherché à empêcher ainsi toute infection ultérieure. Il ne peut être question que du virus ancestral, car cela est prouvé par ce fait que *ces petits ont manifesté le mal à peu près tous en même temps et après une période symptomatique plus longue* qu'il n'est d'habitude chez des sujets si jeunes. Je l'ai déjà dit dans mon travail précédent, cette période est généralement très courte, comme nous le savons aussi par une communication de Remlinger qui a trait à la question. Ce qui le prouve encore, c'est que le virus pris de ces petits et inoculé à des cobayes et des lapins n'a produit la rage qu'après un état latent très long, phénomène

qui n'a pas lieu lorsque le virus inoculé est de provenance externe. Cela répond parfaitement à la conclusion tirée à la suite de la série précédente de mes expériences : ce fait ne peut trouver son explication que dans *l'affaiblissement du virus.*

Cette expérience fournit aussi des données très intéressantes, et au point de vue pratique très importantes, sur la question suivante : *Pendant combien de temps le virus peut-il circuler dans le sang d'un animal atteint de la rage avant que les symptômes caractéristiques n'apparaissent et pendant combien de temps l'animal peut-il communiquer l'infection avant sa mort?* Pour compléter les observations analogues citées dans mon deuxième travail, qu'il me soit permis de citer le cas suivant très intéressant d'ailleurs qui est arrivé depuis lors :

Le 18 mars 1912, un petit chien avait mordu le fils d'un propriétaire. Le lendemain on nous amena le chien afin de l'observer. Nous n'avons rien remarqué de suspect pendant plusieurs jours; il mangeait de bon appétit et se réjouissait quand le domestique lui apportait sa nourriture. Le 29 mars, soit onze jours plus tard, il mordait de telle manière un autre chien enfermé dans la même cage que celui-ci en eut la mâchoire brisée en trois parties. Le 30 mars, le museau rempli de bave, il essayait furieusement de ronger les barreaux en fer de sa cage; le 31, il était mort. Comme nous n'avions rien remarqué de suspect pendant les jours qui suivirent celui où il avait mordu l'enfant, nous avions recommandé d'attendre avant de commencer le traitement antirabique prophylactique; cependant sitôt que les symptômes se manifestèrent nous envoyâmes l'enfant à l'Institut Pasteur de Budapest où le traitement se fit avec succès, puisqu'il vit encore.

Cependant ce chien, comme nous l'avons établi plus tard, *avait mordu un autre chien quatorze jours avant sa mort*; *celui-ci périssait aussi, chez nous, trente-neuf jours après avoir été mordu, avec tous les symptômes caractéristiques de la rage.*

Donc dans ces cas-ci, il est question d'un chien qui, *treize jours avant sa mort* et *onze jours avant l'apparition des symptômes, avait mordu un enfant. Nous avons recommandé à cet enfant le traitement prophylactique*, parce que, nous basant en partie sur nos propres expériences publiées déjà et en partie sur les données de Zagarrio, nous savions que la *morsure*

est dangereuse même treize jours avant l'apparition des symptômes caractéristiques de la rage.

Voilà pourquoi nous avons été très surpris à l'apparition de la monographie d'Heller et Rothermundt (*Wutschutzimpfung und Wutimmunität*, parue fin décembre 1913), en voyant à la page 921, où ils traitent du traitement prophylactique, et en se rapportant à Marie et à Remlinger, comment ils indiquent au docteur la ligne de conduite à suivre; nous lisons que, si le chien vit encore dix jours après avoir occasionné la morsure et s'il est en bonne santé, le traitement antirabique n'est pas nécessaire. Nous pensons que c'est un conseil qui peut avoir des conséquences funestes parce que, si nous nous rapportons au cas présent, nous voyons que nous aurions exposé ce jeune garçon aux graves suites de l'infection puisque, comme nous l'avons dit, le chien mordu par le même animal un jour avant l'enfant a aussi contracté le mal. Nous le savons parfaitement bien et d'ailleurs, nous l'avons aussi fait observer dans notre deuxième travail traitant du même sujet : il est très difficile de se prononcer et la question de savoir s'il faut recommander ou non le traitement prophylactique dans un cas analogue au nôtre, c'est-à-dire quand le chien n'est pas absolument suspect, cause souvent un grand embarras même aux hommes compétents en pathologie de la rage. Mais nous pensons que, si les circonstances qui accompagnent la morsure peuvent éveiller le moindre soupçon, il est prudent de faire exécuter le traitement prophylactique dans sa plus petite mesure et d'observer l'animal pendant quatorze jours. Si les symptômes caractéristiques se déclarent, il est urgent de compléter le traitement; sinon, nous n'aurons pas nui avec cette inoculation préalable. Par contre, si nous négligeons le traitement prophylactique, il peut en coûter la vie à la victime et pour notre compte nous ne voulons pas supporter les conséquences d'une telle possibilité.

Troisième série.

Quand le cobaye femelle dont nous avons parlé dans la série précédente est mort le 1er décembre 1911 avec tous les symptômes caractéristiques de la rage, nous avons trouvé intérieurement deux fœtus parvenus à mi-développement. Le

père ne pouvait être que le mâle qui a été mentionné avec la mère dans la série précédente. Il était enfermé dans la même cage et avait subi la même inoculation. Il a succombé le même jour que la femelle et de la même infection caractéristique. Cela est très intéressant parce que la même mère qui a mis bas le 4 septembre était de nouveau portante presque trois mois plus tard, lors de sa mort. Ces fœtus en étaient à 15-20 jours depuis la fécondation, parce que chez les cobayes la période de la grossesse varie entre 30 et 35 jours, et ainsi ils avaient à peu près leur demi-développement (1).

Nous avons examiné ces fœtus avec soin afin d'y découvrir des corpuscules de Negri, mais nous n'en avons trouvé aucune trace. Avec le même soin nous avons opéré séparément l'inoculation de leur virus dans des cobayes différents.

Le cobaye inoculé sous les méninges avec le virus du *premier* fœtus périssait 29 jours après; celui inoculé de la même manière avec le virus du *deuxième* fœtus mourait après 30 jours. Tous les deux avaient eu l'infection caractéristique qui s'était manifestée par une période symptomatique d'un jour. Ils sont donc morts quelques jours plus tard que les cobayes injectés avec le virus de la mère, car ces derniers n'ont vécu que 23 jours et 27 jours après leur inoculation.

Ainsi dans ce cas, un mâle infecté de la rage et une femelle dans les mêmes conditions produisent, de 15 à 20 jours avant leur mort, des fœtus dans lesquels l'expérience a prouvé l'existence du virus. Dans ce cas-ci une nouvelle question peut aussi se poser : l'infection n'était-elle pas conceptionnelle ?

Quatrième série.

Le 3 septembre 1913 nous avons inoculé profondément à côté de la colonne vertébrale, une chienne du poids de 7 à 8 kilogrammes, avec le bulbe d'un chien qui, après avoir subi une pareille inoculation, est mort 21 jours plus tard de la rage caractéristique. Le 5 novembre, soit 63 jours après l'inoculation, cette chienne a mis bas six petits entièrement développés. Leur père était un chien en bonne santé.

(1) Richet, *Dictionnaire de Physiologie*, t. III, p. 930.

Nous avons séparé immédiatement les petits de leur mère et les avons placés en lieu sûr et très propre pour les nourrir artificiellement, car nous avions à craindre l'apparition de la rage à tout moment chez la mère, et cela d'autant plus que le cobaye et le lapin qui avaient été inoculés semblablement et avec la même matière étaient morts de la rage, l'un le 12e jour, après une période symptomatique de vingt-quatre heures, l'autre le 13e jour, après une période symptomatique de quatre jours. Ce n'est que *onze jours* plus tard que la rage se déclara chez la chienne et la tua après une période symptomatique de vingt-quatre heures.

Le sort des petits fut le suivant :

Le 16 novembre, *le premier* petit, après avoir vécu *11 jours*, est mort subitement; nous l'avons trouvé froid et raidi. Au premier moment nous avons pensé qu'il avait été victime du froid, mais nous y avons découvert des corpuscules de Negri et nous avons inoculé son virus à un cobaye sous les méninges. Ce cobaye périssait 18 jours après l'inoculation de la rage caractéristique et pure.

Le deuxième est mort le 17 décembre après avoir vécu *43 jours*. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé sous les méninges avec son virus a péri après 21 jours de la rage pure.

Le troisième a été trouvé crevé le 5 janvier 1912 à l'âge de *deux mois*. Il contenait une grande quantité de corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé avec son virus sous les méninges est mort au bout de 11 jours après une période symptomatique de vingt-quatre heures. Le lapin, par contre, inoculé de même a vécu assez longtemps. Ce n'est que le 5 février 1913, juste treize mois plus tard, qu'il a succombé à l'infection pure.

Le quatrième petit est mort subitement le 9 janvier après avoir vécu *66 jours*. Nous y avons découvert aussi des corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé de son virus sous les méninges a péri après quinze jours avec tous les symptômes caractéristiques de la rage.

Le cinquième périt le 11 janvier, c'est-à-dire le *68e jour* après sa naissance; la période symptomatique dura vingt-quatre heures. Dans la corne d'Ammon, il y avait beaucoup de cor-

puscules de Negri. Le cobaye inoculé de ce virus est mort après vingt jours de la rage pure et caractéristique.

Le sixième est mort le 12 janvier après avoir vécu *69 jours*. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri et le cobaye inoculé de ce virus a péri au bout de vingt et un jours avec tous les symptômes de la rage pure.

Pour pouvoir embrasser d'un coup d'œil le résultat de toutes nos expériences sur ce sujet, nous avons dressé le tableau synoptique suivant qui comprend toutes les séries d'expériences parues déjà dans mes deux travaux ainsi que les nouvelles faites depuis lors.

Il résulte de mes expériences précédentes et des nouvelles faites depuis lors le résumé suivant :

Résumé.

1. La matière infectieuse de la rage se transmet de la mère au fœtus, mais dans ce processus elle s'affaiblit; c'est pourquoi la rage se déclare graduellement de plus en plus tard au fur et à mesure que le virus s'éloigne de son origine.

2. Dans cette transmission il ne paraît pas y avoir de différence entre les espèces d'animaux, car elle a lieu chez le chien, le lapin, le cobaye et probablement chez les autres animaux aussi.

3. Pour ces expériences et pour obtenir des résultats probants de l'inoculation, il ne faut pas employer le lapin mais le cobaye, et l'injection doit se faire sous les méninges. Le cobaye, étant plus sensible à la rage, donne des solutions plus rapides et plus certaines aux questions en litige. Le lapin, par contre, ne prend la rage que très tard ou pas du tout. Ce retard est un facteur dont on n'a pas tenu compte jusqu'à présent et c'est pourquoi les auteurs qui n'expérimentent qu'avec des lapins ou d'autres animaux arrivent à des conclusions erronées.

4. Il est aussi très important de prolonger le temps des observations si l'on fait des expériences sur les cobayes, parce qu'ils contractent aussi le mal beaucoup plus tard que ceux qui sont inoculés avec le virus de la mère.

5. Le virus circule déjà dans le sang de l'animal infecté de la rage lorsque la fièvre qui est le premier symptôme de la rage

NUMÉRO de la série.	DE QUEL ANIMAL sont les DESCENDANTS ?	TROUVÉS DANS LE CADAVRE, OU NÉS VIVANTS et dans ce dernier cas combien de temps ont-ils vécu?	INOCULÉS AVEC LE VIRUS DU FOETUS — COBAYES — Ont contracté la rage au bout de combien de jours?	INOCULÉS AVEC LE VIRUS DU FOETUS — LAPINS — Ont contracté la rage au bout de combien de jours?
I.	Cobaye.	4 fœtus dans le cadavre.	Deux. . . . . après 91 jours.	Un après 105 jours.
			Un. . . . . . après 92 jours.	Un après 475 jours.
			Un . . . . . . après 96 jours.	
			Quatre . . . . après 98 jours.	
II.	Lapine.	4 fœtus dans le cadavre.	Deux. . . . . après 15 jours.	Un après 229 jours.
III.	Lapine.	2 petits vivants, ont vécu 1 jour	Du I, deux après 24 jours.	
			Du II, un. . après 21 jours.	
			Du II, un. . après 53 jours.	
IV.	Chienne.	7 fœtus dans le cadavre.	Du I, un. . après 18 jours.	Un après 78 jours.
			Du II, un. . après 22 jours.	
			Du III, un. . après 22 jours.	
			Du IV, un. . après 22 jours.	
			Du V, un. . après 19 jours.	
			Du VI, un. . après 19 jours.	
			Du VII, un. . après 19 jours.	
V.	Lapine.	3 petits vivants, ont vécu 4 jours	Du I, un. . après 23 jours.	Un qui est resté en vie.
			Du II, un. . après 23 jours.	Mort d'autre infection.
			Du III, un. . après 23 jours.	Un après 725 jours.
VI.	Cobaye.	3 petits vivants : I, a vécu 84 jours.	Du I, un. . après 24 jours.	Un après 215 jours.
		II, a vécu 90 jours	Du II, un. . après 20 jours.	Un après 159 jours.
		III, a vécu 91 jours.	Du III, un. . après 21 jours.	Un après 161 jours.
VII.	Cobaye.	2 fœtus dans le cadavre.	Du I, un. . après 29 jours.	
			Du II, un. . après 30 jours.	
VIII.	Chienne.	6 petits vivants : I, a vécu 11 jours	Du I, un. . après 18 jours.	
		II, a vécu 43 jours	Du II, un. . après 21 jours.	
		III, a vécu 61 jours	Du III, un. . après 11 jours.	Un après 13 mois.
		IV, a vécu 66 jours	Du IV, un. . après 15 jours.	
		V, a vécu 68 jours	Du V, un. . après 20 jours.	
		VI, a vécu 69 jours	Du VI, un. . après 21 jours.	

expérimentale fait son apparition au commencement de la période symptomatique. Avec le sang elle se transmet de la mère au fœtus, des semaines et même des mois avant la mort.

6. La morsure du chien est déjà dangereuse quatorze jours avant l'apparition des symptômes caractéristiques cliniques.

BIBLIOGRAPHIE

Dammann et Hasenkamp. — Einiges über Tollwut, II. Ist die Wut vererbbar? *Deutsche Tierärztl. Wochenschr.*, 1908, n° 32, p. 457. Ref. *Centr. f. Bakteriologie*, I. Abt. Ref. Bd XLIII, 1909, p. 697.

Fermi. — Ueber die Verschleppung der Lyssa durch Ratten und Mäuse. *Centr. f. Bakteriologie*, I. Abt. Orig. Bd XLIII, p. 218.

— Können die Mäuse und die Ratten sich die Tollwut durch Genuss von Wutmaterial zuziehen? *Ibid.*, XLIII, p. 221.

— Die Empfänglichkeit der Muriden der subkutanen Wutinfektion gegenüber. *Ibid.*, XLIII, p. 173.

— Ueber die besondere Virulenz des fixen Virus des antirabischen Institutes zu Sassari. *Ibid.*, XLIX, p. 521.

Galli-Valerio. — Recherches expérimentales sur la rage des rats, etc. *Ibid.* XL, p. 197 et 318, ainsi que L, p. 318.

— Le virus fixe de Sassari. *Ibid.*, LIII, p. 397.

Heller et Rothermundt. — Wutschutzimpfung und Wutimmunität. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd VIII.

Konradi. — Ist die Wut vererbbar? *Centr. f. Bakteriolog.* Orig., Bd XXXVIII, p. 60, et *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1905, p. 301.

— Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektionsfähig? *Ibid.* Orig. Bd XLVII, p. 203.

Koch Josef. — Lyssa. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd. VIII.

Miessner-Kliem et Kapfberger. — Immunisierungsversuche gegen Tollwut, VIII. Uebertragung der Lyssa vom Muttertier auf den Fœtus. *Arch. f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde*, Bd XXXIX, H. 3, p. 169.

Repetto. — Experimentelle und histologische Beobachtungen über die Milch und die Amniosflüssigkeit eines an der Tollwut gestorbenen Schafes. *Centr. f. Bakteriologie*, Bd L, p. 442.

Remlinger. — Sur l'infection des murides contre la rage par voie digestive. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXIV, n° 18.

— Transmission de la rage à la souris par ingestion. *Ibid.*, t. LXV, n° 30.

— La rage chez les tout jeunes chiens. *Ibid.*, t. LXV, n° 34.

— Rapport sur la rage. *Ier Congrès internat. de pathol. comp.*, I, p. 149.

Schindler. — Tollwutimpfungen an Muriden. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd LXI, p. 169. Ref. *Centr. f. Bakteriolog.*, Bd XLIII, p. 699.

Wassermann et Keysser. — Erbliche Uebertragung von Infektionskrankheiten. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd II, Aufl. I, p. 662.

Zagarrio. — Trasmissione della rabbia durante il periodo di incubazione. Ref. *Baumgarten's Jahresberichte*, 1903, p. 816.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Février. — N° 2.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 2

30e ANNÉE FÉVRIER 1916 N° 2

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff

SULL' AZIONE DEI RAGGI ULTRAVIOLETTI SUI BACTERI

del prof. GINO GALEOTTI.

(Istituto di Patologia generale della R. Università di Napoli.)

Da qualche tempo sono state iniziate nell' Istituto da me diretto varie ricerche, per studiare l'azione dei raggi ultravioletti sui bacteri, e, nelle pagine che seguono, riassumerò i resultati fino ad ora ottenuti.

Credo inutile di riferire la bibliografia sull' argomento e dirò solo che, da quando il Marshall-Ward nel 1880 riconobbe, che l'azione bactericida della luce è dovuta principalmente ai raggi ultravioletti, che essa contiene, numerosissimi lavori sono stati fatti, per studiare e misurare questo mezzo di disinfezione. Con la costruzione poi della lampada di quarzo a mercurio, tali ricerche entrarono in un campo pratico, poichè la lampada a mercurio è una sorgente fortissima di raggi ultravioletti. Mi basta di citare a questo proposito i lavori di Henri e Cernovodeanu, di Courmont e Nogier, di Schrötter, di Menini, di Vallet, ecc.

Negli esperimenti, a cui adesso accennerò, fu adoperata una

lampada di quarzo Hæreus, fornita dalla casa Westinghouse. Essa lavorava sotto una tensione di 75 volts.

I microorganismi, su cui si sperimentava, venivano emulsionati in differenti liquidi, e poi questi erano versati in vetrini da orologio ed esposti ai raggi della lampada, ad una distanza di circa 20 centimetri : quivi la temperatura dell' aria non saliva mai al di sopra di 30 gradi.

Intercalando e togliendo adatti schermi, si regolava, fino al secondo, l'azione dei raggi ultravioletti sulle emulsioni dei bacteri. Lo strato delle emulsioni non era mai più spesso di 2 o 3 millimetri.

A differenti intervalli si facevano poi innesti in agar e si lasciavano le culture ad adatta temperatura e per un tempo sufficiente, a fine di vedere, dallo sviluppo in questi tubi di agar, fino a quando i microorganismi erano rimasti viventi.

I

Une prima serie di ricerche (1) furono fatte con i bacilli della peste e del colera, sospesi in diversi liquidi : soluzione fisiologica, brodo, orina, siero di sangue, latte.

Inoltre, a fine di vedere se i raggi ultravioletti potessero servire a sterilizzare stoffe infette coi bacilli della peste o del colera, si imbevevano di una emulsione di questi bacteri alcuni pezzettini di stoffa sterilizzati, e poi si esponevano ai raggi della lampada a mercurio. Si facevano quindi cadere questi pezzettini di stoffa in tubi di brodo, o si strisciavano sulla superficie di tubi di agar e si notava se nel brodo o sull' agar si avesse alcuno sviluppo.

Da questi esperimenti risultò, che il tempo di esposizione ai raggi ultravioletti, necessario per uccidere i bacilli della peste e del colera, varia considerevolmente a seconda della natura del liquido, in cui i microorganismi sono sospesi.

Se il liquido di sospensione è la semplice soluzione fisiologica, basta circa un minuto di esposizione per uccidere tutti i vibrioni colerici, e fra 6 e 10 minuti per uccidere tutti i bacilli della peste.

(1) Ricerche fatte dai Dr. A. Schiavone e G. Trerotoli.

E' necessario qui notare, che questi tempi sono alquanto più lunghi di quelli stabiliti da altri autori per vari microorganismi. Questa differenza dipende forse dal fatto, che si usarono sospensioni piuttosto ricche di microorganismi e così è probabile, che quelli che si trovavano negli strati superficiali del liquido, proteggessero i bacteri sottostanti dall' azione dei raggi ultravioletti.

Se nel liquido, in cui sono sospesi i bacteri, sono contenute altre sostanze organiche, è necessario un tempo d'esposizione ai raggi ultravioletti assai più lungo, affinchè avvenga la morte di tutti i microorganismi. E' cosi risultato, che son necessari per i *vibrioni del colera* :

30 minuti, se i vibrioni sono sospesi nel siero di sangue;
2 ore, se i vibrioni sono sospesi nel brodo:
2 ore, se sono sospesi nell' orina;
2 ore e 30, se sono sospesi nel latte.

Per i *bacilli della peste* :

15 minuti, se sono sospesi nel brodo,
1 ora e 30, se sono sospesi nell' orina;
2 ore e 30, se sono sospensi nel latte;
più di 3 ore, se sono sospesi nel siero di sangue.

Le stoffe, infettate con i vibrioni colerici o con i bacilli della peste, possono venir facilmente sterilizzate con la esposizione ai raggi ultravioletti per un tempo che varia da quindici a quarantacinque minuti. Questo tempo può essere abbreviato, se si ha cura di voltare le stoffe, in modo da sottoporre all' azione dei raggi ora una faccia ora l'altra della stoffa infetta.

Per riguardo alle applicazioni pratiche della lampada a mercurio, come mezzo di sterilizzazione, si può concludere da questi esperimenti, che facilmente i raggi ultravioletti possono uccidere i microorganismi, che si trovino nell' acqua pura, ma che non si raggiunge affatto lo scopo, se i microorganismi si trovino in liquidi, contenenti sostanze organiche di qualsiasi specie.

Queste sostanze organiche proteggono i bacteri frammisti ad esse, assorbendo i raggi ultravioletti.

In questi casi la uccisione di tutti i bacteri avviene solo, se i liquidi sono disposti in strati sottili e dopo 2 o 3 ore di esposi-

zione ai raggi. Quindi si può concludere, che la lampada a mercurio è praticamente inefficace, quando si pensi di sterilizzare con essa liquidi organici, quale appunto il latte.

II

Altre ricerche furono fatte (1) con il *bacterium coli*, che è uno dei microorganismi più sensibili all' azione dei raggi ultravioletti (Henri e Cernovadeanu), e, in riguardo aquesti bacteri, si studiò l'azione protettiva di certe sostanze proteiche e dei loro derivati e di idrati di carbonio.

Si preparavano a tal fine soluzioni diversamente concentrate di caseina, di peptone, di prodotti della idrolisi proteica, di glicocolla, di urato sodico, di colla d'amido, di saccarosio, e a queste soluzioni si aggiungeva, in quantità ben determinata, una fine emulsione culturale di *bacterium coli*. Dopo la esposizione ai raggi ultravioletti per tempi variabili, si facevano, come al solito, gli innesti in tubi di agar.

I risultati di questi esperimenti si possono riassumere nella tabella seguente :

SOSTANZA	CONCENTRAZIONE della SOLUZIONE	TEMPO DI ESPOSIZIONE necessario PER UCCIDERE I GERMI
Acqua	0	30 secondi-1 minuto.
Caseina	1 p. 100	più di 45 minuti.
Peptone	0,6 p. 100	più di 15 minuti.
Prodotti idrolitici dell' albumina	»	più di 35 minuti.
Glicocolla	4 p. 100	meno di 5 minuti,
Urato sodico	1,5 p. 100	1 minuto.
Colla d'amido	2 p. 100	1 minuto.
Saccarosio	10 p. 100	1 minuto.

Si vede quindi che, tanto la caseina, quanto i derivati delle sostanze proteiche, hanno una grande azione protettiva pei bacteri, di fronte ai raggi ultravioletti, ma minore è l'azione protettiva della glicocolla, quasi nulla quella dell' urato sodico, cosi pure nulla è l'azione protettiva della colla d'amido e della soluzione di saccarosio.

Se si confronta la differenza di comportamento della caseina

(1) Ricerche fatte dal Dr. N. Ricciardi.

dalla colla d'amido, si può concludere, che non è alla natura colloide di queste sostanze, che si deve l'azione protettiva.

Neppure si può dire, che questa azione sia in qualche rapporto con i processi ossidativi, che possono subire le sostanze che si trovano insieme ai bacteri, perchè in questi esperimenti sostanze non molto diverse per la loro ossidabilità, hanno mostrato grandi differenze nel loro potere di protezione.

Si deve quindi concludere, che questa azione protettiva dipende dalla facoltà di assorbimento dei raggi ultravioletti, che alcune sostanze posseggono in alto grado e altre in grado molto minore.

Le sostanze proteiche hanno probabilmente un massimo potere assorbente pei raggi ultravioletti, e per questo difendono così efficacemente i bacteri dall' azione di essi.

III

Un' altra serie di esperimenti è stata fatta (1) per vedere il risultato dell' azione combinata dei raggi ultravioletti e delle sostanze così dette *fotodinamiche*. A questo scopo si aggiungevano alle solite sospensioni di bacteri, piccole quantità di soluzioni di sostanze fluorescenti (fluorescina, eosina, clorofilla in soluzione acquosa colloidale) e poi si esponevano questi liquidi ai raggi della lampada a mercurio. A differenti intervalli di tempo si facevano innesti in tubi di agar. Si facevano poi contemporaneamente due controlli : uno con la stessa sospensione di bacteri, senza aggiunta di sostanze fluorescenti, tenendola esposta ai raggi ultravioletti, l'altro con sospensione di bacteri mescolata all' una o all' altra sostanza fluorescente e tenuta all' oscuro.

Si esperimentò sui seguenti bacteri : b. del tifo, b. coli, b. della peste, b. del colera, b. della difterite, *b. subtilis*, stafilococco piogene, *micrococcus melitensis*, paratifo A, paratifo B.

Risultò che la fluorescina e l'eosina rendono più intensa l'azione dei raggi ultravioletti, poichè i bacteri, sospesi in soluzioni che contengono piccole quantità di queste sostanze fluorescenti (quantità che sono sicuramente innocue, se i bacteri

(1) Ricerche fatte dal Dr. N. Di Jorio.

sono tenuti all' oscuro), muoiono in un tempo alquanto più breve di quello che è necessario, perchè i raggi ultravioletti soli uccidano gli stessi microorganismi, sospesi nell' acqua pura. La clorofilla invece non ha alcuna azione.

IV

In una quarta serie di esperimenti (1) fu studiata la motilità dei bacteri, dopo l'azione dei raggi ultravioletti. Questi esperimenti furono eseguiti col b. del tifo, col b. del paratifo A, col b. del paratifo B, col b. del colera, col *b. subtilis*.

Al solito si facevano emulsioni sottili e ben uniformi di questi microorganismi, si mettevano in vetrini da orologio, che erano esposti ai raggi ultravioletti. A determinati intervalli di tempo, si prelevavano delle gocce di questi liquidi, e con esse si facevano contemporaneamente innesti in tubi di agar e preparati a goccia pendente. Questi ultimi erano subito sottoposti all' osservazione microscopica.

Risultò, che i bacilli mostravano ancora vivaci movimenti, quando già non erano più capaci di riprodursi.

Mentre, dopo un tempo d'esposizione variabile da 2 minuti a 7 minuti, ogni attività riproduttiva era scomparsa, i bacteri erano ancora mobili, dopo mezz' ora d'esposizione e talora anche dopo 45 minuti. Il tempo d'irradiazione necessario a renderli immobili era in media dodici volte maggiore di quello necessario a privarli della facoltà riproduttiva.

Nei germi esposti non molto a lungo (10-12 minuti), i movimenti erano ancora vivacissimi : in seguito essi si rallentavano gradatamente, finchè cessavano del tutto.

In due esperimenti, eseguiti col b. del tifo e col vibrione del colera, si stabilì per quanto tempo i germi, resi così incapaci di riprodursi, conservavano la mobilità, dopo cessata l'esposizione ai raggi ultravioletti. A questo scopo si prolungava l'osservazione dei preparati in goccia pendente, per alcuni giorni. Si vide, che i bacteri irradiati solo per il tempo necessario a renderli incapaci di riprodursi, erano mobili ancora dopo tre giorni. La loro mobilità persisteva però meno a lungo, che

(1) Ricerche fatte dal Dr. F. Porcelli-Titone.

quella dei germi non sottoposti ai raggi ultravioletti : mentre i germi, più lungamente irradiati, si conservavano mobili per un tempo più breve e tanto più breve quanto maggiore era stata la durata d'esposizione.

Questi esperimenti mostrano, che i bacteri irradiati sopravvivono alla perdita del loro potere di riproduzione, il quale appare specialmente sensibile all' azione dei raggi ultravioletti.

Inducono inoltre a pensare, come già Renaud aveva affermato, che quest' azione non produca modificazioni grossolane e rapide del protoplasma bacterico, e fanno sperare in una probabile utilità d'usare come vaccini, dei germi ancora vivi, ma resi, in questo modo, incapaci di riprodursi. Su tale argomento infatti sono adesso in corso nuovi esperimenti.

FERMENTATION MÉTHANIQUE DE L'ALCOOL ÉTHYLIQUE

par V. L. OMELIANSKY (Petrograd).

L'action de l'alcool éthylique sur les microbes a été étudiée à plusieurs reprises, et la bibliographie de cette question est déjà assez étendue. Mais dans la majorité des cas, ce problème a été traité dans la science sous un point de vue quelque peu exclusif, car on se bornait presque à n'envisager que la portée pratique de la question. On sait que l'alcool éthylique est un désinfectant assez usuel qui est employé en médecine et en hygiène pour des buts variés, et à ce point de vue il est d'un intérêt assez notable d'élucider l'action que l'alcool éthylique exerce sur les microbes. On employait habituellement pour de semblables expériences les solutions concentrées dont on se sert dans la pratique, et l'on déterminait le temps nécessaire pour paralyser ou tuer les microbes soumis à leur action. Sans nous arrêter à cette question (elle n'a qu'un rapport indirect avec le problème que nous allons exposer), nous renvoyons toutes les personnes intéressées par elle aux mémoires de Russ (1), de Kurzwelly (2), où sont analysés avec soin tous les travaux concernant l'action désinfectante de l'alcool éthylique.

Mais tout en exerçant, en solutions concentrées, une action toxique sur les microbes, l'alcool éthylique en solutions diluées peut servir de substance nutritive pour les organismes supérieurs aussi bien que pour les microbes. Les recherches entreprises à ce sujet ne sont pas bien nombreuses ; nous nous arrêterons seulement à celles qui ont pour but d'élucider la valeur nutritive de l'alcool éthylique pour les microbes (3).

(1) Russ, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. I, Originale, Bd XXXVII, p. 115 et 280 (1914).
(2) Kurzwelly, *Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik*, Bd XXXVIII (1903).
(3) Pour l'analyse des travaux consacrés à l'étude de la valeur nutritive que l'alcool éthylique présente pour l'homme, voir les mémoires de Duclaux, *Ann. de l'Institut Pasteur*, vol. XVI, p. 857 (1902) et vol. XVII, p. 770 (1903).

Les premiers auteurs qui s'étaient occupés de cette question avaient montré que, même employé en solutions peu concentrées (par exemple, en solution à 2 p. 100), l'alcool éthylique entrave ou même arrête le développement des microbes [Buchholz (1)]. Mais cette conclusion n'a pas tardé à être réfutée par les auteurs ultérieurs qui ont démontré que l'alcool éthylique en solutions peu concentrées peut exercer sur certains microbes une action nutritive qui ne le cède en rien à celle du sucre, substance douée d'un pouvoir nutritif si élevé.

Les recherches comparées de Lœw (2) ont établi que la valeur nutritive des alcools homologues de la série grasse va en s'abaissant au fur et à mesure qu'en augmente le poids moléculaire (par allongement de la chaîne carbonée ouverte) ; voilà pourquoi l'alcool éthylique présente pour les microbes une substance nutritive d'une valeur plus élevée que ne le sont, par exemple, l'alcool amylique et les autres alcools supérieurs. La propriété de pulluler sur solutions alcooliques est très accusée chez certaines espèces, par exemple chez les bactéries acédifiantes (optimum de pullulation sur milieu contenant jusqu'à 5 p. 100 d'alcool éthylique) et les champignons de la levure du genre *Mycoderma*. Lœw (3) a décrit en 1902 une espèce très intéressante au point de vue physiologique, à savoir le *Bac. methylicus* qui pullule parfaitement sur solutions diluées d'alcools méthylique et éthylique. L'alcool éthylique peut servir de source de nutrition carbonée pour certaines bactéries fixant l'azote, par exemple pour l'*Azotobacter chroococcus* [Beijerinck (4)]. D'après les recherches de Wirgin (5), l'alcool éthylique, ajouté en petite quantité au milieu nutritif, rend notablement plus énergique le développement du *Bac. fluorescens liquefaciens* et du *bacille pyocyanique* ; cet auteur est même d'avis que non seulement l'alcool stimule la croissance de ces microbes, comme l'avaient supposé quelques auteurs, mais encore qu'il est employé par eux en qualité de matière nutritive véritable.

(1) Buchholz, *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, Bd IV, p. 1 (1875).
(2) Loew, *Die chemische Energie der lebenden Zellen*, 2e édit., p. 36 (1906).
(3) Loew, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. I, Bd XII, p. 463 (1892).
(4) Beijerinck, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd VII, p. 570 (1901).
(5) Wirgin, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd XL, p. 307 (1902).

Les solutions diluées d'alcool éthylique constituent un assez bon milieu de culture pour quelques bactéries dénitrifiantes [Beijerinck (1)], levures et champignons [Lindner (2)]. Les moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus* pullulent bien sur une solution d'alcool méthylique à 3 p. 100 qu'elles décomposent énergiquement. En revanche, le développement des moisissures du genre *Mucor* est entravé même par une solution très diluée d'alcool [Wehmer (3)].

Les quelques exemples que nous venons de rapporter suffisent déjà, ce nous semble, pour démontrer la non-justesse de l'opinion d'après laquelle l'alcool éthylique agit sur les microbes exclusivement en qualité de poison. A n'en pas douter, cet alcool sert dans nombre de cas pour les microbes en qualité de substance nutritive et de matière énergétique.

Les recherches sus-mentionnées ont laissé complètement de côté la question de la décomposition anaérobie de l'alcool éthylique. Celle-ci est-elle possible, et les micro-organismes anaérobies peuvent-ils se contenter de l'alcool éthylique comme source unique de carbone et d'énergie? Pour résoudre cette question il fallait provoquer la décomposition anaérobie de l'alcool éthylique dans une solution purement minérale, en l'absence de toute autre substance organique. Ce fut là le but de notre expérience.

Nous avons préparé le milieu nutritif de la composition que voici :

Eau distillée	100 cent. cubes.
Phosphate de potassium	0,1 gramme.
Sulfate de magnésie	0,05 gramme.
Phosphate d'ammonium	0,1 gramme.
Sel de cuisine	Traces.

C'est avec cette solution que nous avons rempli tout entier un matras à col long, muni d'un tube latéral pour recueillir les gaz. Nous avons mis dans le matras une petite quantité de craie pour neutraliser les acides qui pourraient se dégager. Ayant stérilisé le liquide, nous y avons ajouté, après refroidissement, l'alcool éthylique au taux de 1 p. 100.

(1) Beijerinck, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd XXV, p. 35 (1909).
(2) Lindner, *Wochenschr. f. Brauerei*, Jahrg. XXX, p. 457 (1913)
(3) Wehmer, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd XIV, p. 556 (1905)

Nous avions employé au début, pour l'ensemencement, une poignée de terre grasse provenant du potager de l'Institut de médecine expérimentale; mais, malgré l'inoculation répétée à deux reprises, il ne survint point de fermentation, et le liquide ne fut pas troublé. Un résultat positif fut obtenu seulement lorsque nous nous servîmes pour l'ensemencement des matières fécales d'un lapin qui avait reçu pendant deux semaines une solution d'alcool éthylique, d'abord à 1 p. 100 et ensuite à 2 p. 100. Dès le dixième jour se déclara dans ce cas, à 30 degrés centigrades, une fermentation assez énergique qui persistait pendant un mois. Le gaz recueilli deux semaines après le commencement de la fermentation était composé de : 11,5 p. 100 CO^2, 87,4 p. 100 CH^4, et 1,1 p. 100 H^2.

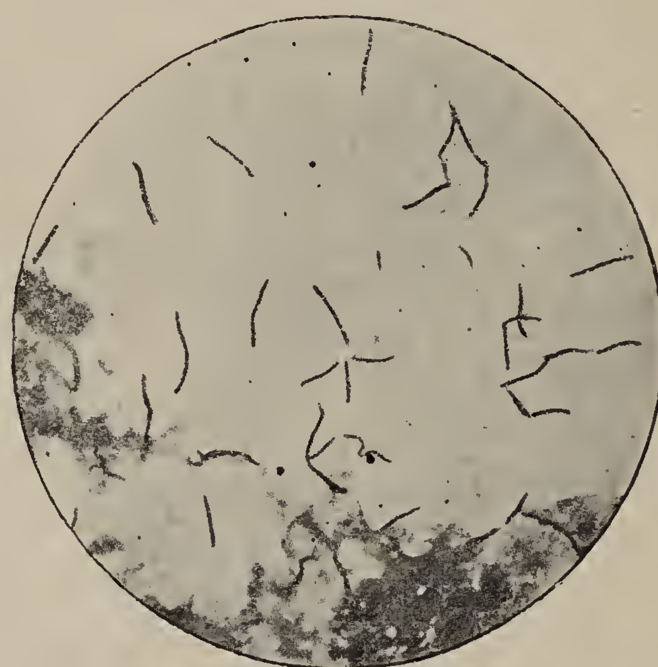
La matière recueillie au fond de ce matras fut ensemencée dans un nouveau matras rempli du même milieu minéral. La fermentation se déclara au bout d'une semaine, et elle fut très énergique. Le gaz était composé exclusivement d'acide carbonique (12 p. 100) et de méthane (88 p. 100), et l'hydrogène y faisait complètement défaut. Il en était de même avec le gaz formé par les générations ultérieures, le méthane prédominait invariablement d'une manière très accusée (il s'élevait parfois à 97,5 p. 100).

De la sorte nous avons réussi à provoquer la fermentation méthanique de l'alcool éthylique dans un milieu nutritif minéral dépourvu de toute autre matière organique. Dans les liquides de même composition, mais ne contenant guère d'alcool éthylique, la fermentation a toujours fait défaut. Le liquide où la fermentation avait déjà cessé était-il additionné d'une nouvelle quantité d'alcool éthylique, la fermentation se déclarait de nouveau avec la même énergie. Lorsqu'elle cessait, le liquide ne contenait plus d'alcool.

Cette fermentation, tout en conservant les traits typiques, a persisté pendant plus d'un an dans une série de générations. La culture faiblissait-elle et la fermentation se ralentissait-elle, nous stimulions le développement des agents de celle-ci en ajoutant au milieu une petite quantité d'une infusion de foin (décoction de 1 gramme de foin par litre d'eau). La fermentation ne tardait pas à survenir dans ces conditions, mais la culture était notablement souillée par des espèces bac-

tériennes étrangères, par suite de l'abaissement des propriétés électives dont le milieu avait été doué. Voilà pourquoi nous n'eûmes recours à ce moyen qu'en cas de besoin extrême, et nous donnâmes la préférence à la solution minérale susdécrite.

Nos expériences ultérieures ont montré qu'on réussit parfois à provoquer la même fermentation en ensemençant le matras avec de la terre de potager. Nous avons obtenu un résultat



Agent de la décomposition méthanique de l'alcool éthylique.

positif en employant pour l'ensemencement de la terre provenant du gouvernement de Volhynie. La fermentation présentait le même caractère que celle provoquée par les matières fécales de lapin.

Dans le stade initial des recherches accomplies jusqu'à présent, nous nous sommes borné à instituer des expériences pour enrichir la culture en microbes spécifiques et à examiner ces micro-organismes. Ils se présentent sous forme de bacilles très minces et assez longs, légèrement courbés, dépourvus de spores. La figure ci-dessus en donne le microphotogramme à un grossissement de 1.000. Cette espèce microbienne prédominait dans la culture à un point tel que c'est elle incontestablement qui constituait l'agent pathogène de la décomposition méthanique subie par l'alcool éthylique.

TRANSMISSION DE LA LÈPRE PAR LES MOUCHES (*MUSCA DOMESTICA*)

par E. MARCHOUX.

Par conception hypothétique, bien des auteurs ont accusé les insectes d'être les agents vecteurs du virus lépreux. Nous avons examiné la question ailleurs, en ce qui concerne les anthropodes piqueurs ou parasites (1), nous n'y reviendrons pas ici. Mais parmi les insectes non piqueurs, il y en a qui doivent plus particulièrement attirer notre attention, ce sont les mouches. Incriminées à juste titre de véhiculer les germes de la tuberculose, du choléra et de la fièvre typhoïde, elles pourraient bien jouer le même rôle vis-à-vis de la lèpre.

L'idée n'est pas neuve, R. Blanchard (2) pense que Linné et Rolander ont considéré *Chlorops* (*Musca*) *lepræ* comme capable de transmettre la lèpre.

La Commission de la lèpre pour les Indes (3) conteste à ces insectes tout pouvoir de propagation parce que, sur dix mouches placées sur des ulcères riches en bacilles lépreux, aucune ne renfermait de germes spécifiques.

Corredor (4) parle d'un Indien qui aurait contracté la lèpre au voisinage de lépreux, dont les ulcères étaient fréquentés par de nombreuses mouches qui venaient ensuite se poser sur lui.

Joly (5), dans un rapport sur la pathologie de Madagascar, écrit : « J'ai vu des malades atteints de lèpre tuberculeuse,

(1) L. Marchoux, La lèpre. *Revue d'Hygiène et de police sanitaire*, t. XXXV, n° 8, août 1913, p. 883.

(2) R. Blanchard, *Zool. méd.*, p. 497.

(3) *The Lancet*, 13 mai 1893.

(4) Corredor, *Revista med. de Bogota*, n° 201, 1883 cité par Nuttall, *John Hopkins Hosp. rep.*, t. VIII, 1899.

(5) Joly, Mission hydrographique de *la Rance*. *Archives de médecine navale*, t, LXXV, 1901, p. 460.

supporter sur leurs plaies, sans même y prêter attention, des légions de mouches. Or ces mouches se répandent ensuite de tous côtés, viennent se poser sur une simple écorchure, une blessure légère non protégée, comme en ont si souvent aux jambes les indigènes marchant nus dans la brousse; et voilà le bacille ensemencé. »

Tucker (1) croit, sans en fournir la preuve, que les mouches jouent un rôle dans la dissémination de la lèpre.

Römer (2) a trouvé des bacilles lépreux, soit isolés, soit groupés en faisceaux caractéristiques, dans des préparations faites avec des mouches domestiques prises dans les dortoirs de la léproserie de Medan (Sumatra).

Clift (3), dans une lettre parue en 1907, dit qu'il est disposé à croire que, comme la tuberculose, la lèpre se transmet par le tube digestif. Les mouches, si fréquentes en Chine où il observe, transportent les bacilles des ulcères sur les aliments et en particulier sur les poissons dont se nourrissent les Chinois.

Wm B. Wherry (4) décida de s'assurer expérimentalement si ces odieux diptères méritent le reproche qu'on leur adresse. Il observa que des larves nourries sur un cadavre de rat lépreux se gorgeaient de bacilles, mais s'en débarrassaient très vite dès qu'on leur donnait un autre aliment. Si on les maintenait sur milieu infecté, on trouvait encore des bacilles chez les pupes et même, pour un cas, chez un imago dans les premières vingt-quatre heures de sa métamorphose. Les insectes parfaits absorbent beaucoup de germes qu'ils rendent avec leurs excréments.

Nash (5), Duque (6) expriment l'opinion que la lèpre peut être convoyée par les mouches.

D. H. Currie (7) a repris les expériences de Wherry et a

(1) Tucker, A contribution to the discussion on the etiology of lepra. *Indian lancet*, 1903, p. 830, et *Baumgarten's Jahresbericht*, t. XIX, p. 335.

(2) R. Römer, La lèpre. *Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique*, 27 janv. 1906, p. 99, et *Lepra*, t. VI, p. 258.

(3) Clift, *Brit. med. Journ.*, avril 1907, p. 931.

(4) Wm B. Wherry, Further notes on rat leprosy and on the fate of human and rat lepra bacilli in flies. *Journ. of inf. dis.*, t. V, 1908, p. 507.

(5) Nash, House flies. *Journ. of hyg.*, t. IX, 1909, p. 161.

(6) Duque, *Sanidad y Beneficencia*, juin 1909.

(7) Donald H. Currie, Flies in relation to the transmission of leprosy. *U. S. public health bull.*, sept. 1910, n° 39, p. 21.

constaté que *Musca domestica* conserve dans l'intestin les bacilles qu'elle a absorbés, plus longtemps (4 jours) que des mouches d'autres espèces telles que *Sarcophaga pallinervis*, *S. barbata*, *Volucella obesa* et une espèce indéterminée de *Lucilia*. Les recherches ont été faites avec le bacille de Mœller et aussi avec de la sérosité d'ulcères lépreux. Il conclut de ses observations que les mouches peuvent transporter des germes, mais il se demande si ces bacilles restent vivants dans l'intestin des insectes.

Lindsay Sandes (1) a placé 70 mouches sur un ulcère lépreux. Il n'a trouvé que deux bacilles dans l'intestin de l'une d'entre elles, et un seul chez une autre.

Lebœuf (2), en Nouvelle-Calédonie, a capturé des mouches qui s'étaient gorgées sur des ulcères préalablement reconnus bacillifères. Tous ces insectes avaient de nombreux bacilles de Hansen dans l'intestin, encore 24 et même 36 heures après leur repas. Leurs déjections en renfermaient aussi de grandes quantités. Un certain nombre de mouches prises au hasard parmi celles qui fréquentaient l'infirmerie des lépreux, portaient aussi dans l'intestin de nombreux germes disposés en globies caractéristiques. De ces recherches Lebœuf conclut que les mouches sont des agents actifs de dissémination du bacille de Hansen. Si la lèpre ne se transmet pas davantage, cela tient à ce que les mouches ne s'écartent guère de l'endroit où elles trouvent une abondante nourriture. Mais il considère que les bacilles contenus dans le tractus intestinal sont vivants car, dit-il, « l'excellent état extérieur des microbes, leur homogénéité, leur parfaite aptitude à la coloration et, plus encore, un allongement de quelques éléments hors des globies, sorte de culture en réduction, laissent à présumer qu'ils ont conservé toutes leurs propriétés vitales ».

De toutes ces observations, il résulte que les mouches et, en particulier, les mouches domestiques peuvent absorber des quantités de bacilles de Hansen en se nourrissant sur des

(1) Lindsay Sandes. The mode of transmission of leprosy, *Lepra*, t. XII, 1911, p. 67.

(2) A. Leboeuf, Dissémination du bacille de Hansen par la mouche domestique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. V, 1912, p. 860.

ulcères ou des mucosités bacillifères; qu'elles conservent pendant plusieurs jours de nombreux germes, dans l'intestin et qu'elles en émettent avec leurs déjections. D'après Lebœuf, ces bacilles lépreux ne périraient vraisemblablement pas pendant leur séjour chez l'insecte et pourraient servir à transmettre la lèpre, si la mouche infestée déposait ses excréments sur une écorchure, sur une plaie ou sur certaines muqueuses de personnes saines vivant au voisinage immédiat de lépreux.

Malheureusement, cette hypothèse n'a pas été vérifiée expérimentalement soit parce que les observations, comme celles de D. Curie et de Lebœuf, ont été faites à l'aide du bacille de la lèpre humaine, qui n'est pas inoculable aux animaux, soit parce que, comme dans celles de Wherry, l'inoculation a été faite au cobaye, animal réfractaire au virus lépreux du rat. Il est, cependant, pour la prophylaxie, d'un intérêt capital d'être fixé. C'est dans le but de recueillir quelques précisions à ce sujet que nous avons entrepris les recherches que nous allons exposer.

La lèpre murine et la sensibilité des rats au virus nous fournissent des éléments d'étude qui nous manquent avec la lèpre humaine.

Pour une première expérience, nous avons enfermé, dans un même bocal, du matériel infectant, des mouches et des rats blessés.

Le *bocal* était un seau en verre de 15 litres, sur le liséré duquel était fixée une manche en tulle à coulisse.

Le *matériel septique*, formé d'une pulpe légèrement pâteuse, avait été obtenu par broyage de ganglions volumineux retirés à des rats fortement infectés. Conservée à la glacière elle est restée à peu près pure. Les bacilles de Stefansky s'y rencontraient en quantités innombrables.

Les *mouches*, capturées au laboratoire, appartenaient toutes à l'espèce *Musca domestica*. Elles avaient été soumises à un jeûne de 12 heures avant d'être mises en présence de la pulpe ganglionnaire.

Comme *rats d'expérience*, nous avons utilisé les rats blancs d'élevage qui, nous le savons, sont très sensibles à la lèpre. On leur avait fait, d'un coup de ciseaux, une boutonnière de 1 cen-

timètre sur le dos. Les animaux en expérience étaient maintenus par un appareil de contention. Celui qui nous a donné toute satisfaction est un cylindre fenêtré, composé de lamelles métalliques articulées entre elles et disposées en losanges extensibles. La section du cylindre et sa longueur varient beaucoup suivant la position des lames. Quand on exerce une pression suivant l'axe, les lames décrivent des losanges très fermés dont la plus grande diagonale est une portion de circonférence. La surface de section est maxima.

Au contraire, quand, en comprimant le cylindre par sa périphérie, les losanges s'allongent parallèlement à l'axe, la surface de section tend vers le minimum.

Les lames extrêmes sont légèrement recourbées si bien que l'appareil a plutôt la forme d'un barillet que d'un cylindre.

D'un seul coup, par une simple pression de la main, on enferme le rat et on le saucissonne. L'animal est fixé et immobilisé sans être gêné pour respirer. Les courbures des extrémités amènent les lames à se joindre en ces deux points et contribuent à empêcher le rat de s'échapper.

18 *juin* 1913. — 200 mouches enfermées dans un bocal depuis 12 heures reçoivent un peu de pulpe septique déposée sur une boîte de Petri. Les insectes se jettent sur la nourriture qui leur est offerte.

19 *juin*. — Quelques-unes des mouches sont disséquées. L'intestin est rempli d'une matière rougeâtre formée de pulpe ganglionnaire contenant une masse énorme de bacilles acido-résistants.

On donne dans la matinée un deuxième repas de matériel septique aux insectes.

Un rat blanc auquel on a fait une boutonnière sur le dos est exposé dans le bocal de 2 heures à 6 heures du soir.

Cet animal a été autopsié le 10 octobre 1913, c'est-à-dire 4 mois après l'expérience. *Il était infecté.*

20 *juin*. — Un autre rat est placé dans le bocal de la même façon que celui de la veille. Les mouches n'ont plus à leur disposition de matériel septique. Elles n'ont pas d'autre nourriture que de l'eau et du sucre.

Le rat, autopsié le 6 octobre, c'est-à-dire à peu près à la même époque que la précédente, *n'est pas infecté.*

21 *juin*. — Un troisième rat est déposé dans le bocal. Les mouches ne disposent toujours que d'eau et de sucre.

Autopsié le 3 octobre, ce rat *n'est pas infecté.*

Dans cette expérience, seul a été infecté le rat qui se trouvait dans le bocal en même temps que le matériel septique. Lorsque les insectes n'eurent plus à leur disposition que de l'eau et du sucre, ils cessèrent d'être infectants.

On pourrait donc de ce qui précède conclure que les mouches véhiculent des germes avec leurs pattes et leur trompe et déposent le matériel septique sur le rat exposé, mais que la dessiccation les débarrasse très vite du virus dont elles sont souillées. Nous savons, en effet, que le bacille de Stefansky ne résiste pas à la dessiccation.

On pouvait se demander d'autre part si, seul, le premier rat n'avait pas été visité par les mouches, les deux autres étant demeurés indemnes parce qu'aucun insecte n'était venu les contaminer.

Dans l'expérience suivante nous nous sommes assuré que les mouches étaient bien venues sur le rat d'expérience.

6 *juin* 1913. — 200 mouches, jeûnant depuis 12 heures, sont nourries avec de la pulpe chargée de bacilles acido-résistants. Un rat, portant une petite plaie sur le dos, est placé dans le bocal à deux reprises : 1° de 11 heures à midi, 10 mouches ont visité la plaie; 2° de 4 heures du soir à 4 h. 1/2, 8 mouches sont venues sur le rat. Tous ces insectes repus se sont posés sur le rat comme ils auraient fait ailleurs, se promenant sans chercher à s'alimenter. Ce rat est mort le 25 décembre 1913. *Il était très infecté.*

7 *juin.* — Les mouches n'ont plus à leur disposition que de l'eau et du sucre. Un deuxième rat est placé dans le bocal de 2 heures à 3 heures du soir ; 13 mouches ont visité la plaie qu'il portait sur le dos. Les insectes, au contraire de ce qui s'est passé hier, se sont nourris sur le rat de sang et de lymphe. Le rat est mort le 4 février 1914. *Il n'était pas infecté.*

Cette expérience complète la précédente et montre que les mouches sont capables de convoyer des bacilles seulement quand leurs pattes et leurs trompes sont récemment souillées. Leur contact a été, avec le 2e rat, plus intime et plus prolongé qu'avec le 1er, et cependant, alors que le 1er a été infecté, le 2e est resté indemne. Seulement le 2e jour les bacilles que nos diptères pouvaient encore porter sur la trompe ou les pattes étaient desséchés et par conséquent morts.

Restait à savoir si les germes enfermés dans l'intestin étaient encore vivants. Pour nous en assurer, nous avons disséqué un certain nombre de mouches après leur repas infectant et nous en avons introduit l'intestin sous la peau de quelques rats, 1, 2, 4 jours plus tard.

Après 1 jour : 31 *mai* 1913. — Une centaine de mouches ont été nourries hier avec de la pulpe ganglionnaire très riche en bacilles acido-résistants. 10 d'entre elles sont capturées aujourd'hui et disséquées. L'intestin est rempli de matières alimentaires chargées d'acido-résistants. On isole

7 intestins qui sont séparés en deux lots, l'un de 3, l'autre de 4. L'un et l'autre sont insérés sous la peau de 2 rats neufs. Le premier de ces rats meurt le 26 juin. *Quelques bacilles acido-résistants dans le ganglion inguinal droit.* Le deuxième meurt le 15 octobre. *Il est sérieusement infecté.*

Après 2 jours : *Première expérience.* — Le 22 mai on donne à des mouches de la pulpe ganglionnaire remplie d'acido-résistants.

Le 23, le matériel est desséché. On le retire et on ne laisse dans le bocal que de l'eau et du sucre.

Le 24, on dissèque 4 mouches. 2 n'ont qu'un petit nombre d'acido-résistants dans l'intestin, ce sont des mâles; 2 femelles ont l'intestin distendu par une matière rougeâtre qui est de la pulpe ganglionnaire. L'un de ces deux derniers intestins est introduit sous la peau d'un rat neuf. Ce rat meurt le 27 février 1914 *très infecté.*

Deuxième expérience. — Le 1er juin, 17 mouches, nourries le 30 mai avec de la pulpe ganglionnaire et laissées depuis cette date à l'eau et au sucre, sont disséquées. Un rat reçoit 4 intestins, 2 provenant de femelles et bien remplis, 2 extraits à des mâles et renfermant peu de matériel. Ce rat meurt le 12 novembre 1913 *très infecté.*

Après 4 jours : Le 26 mai, 9 mouches, nourries le 22 avec de la pulpe ganglionnaire, sont disséquées. L'intestin est vide chez les mâles. Dans le tube digestif des femelles il reste quelques matières jaunâtres. Au milieu de beaucoup d'autres microbes, on voit un certain nombre d'acido-résistants. 4 intestins de femelles sont introduits sous la peau d'un rat neuf. Cet animal meurt le 5 janvier 1914 *très infecté.*

De cette expérience, il résulte :

1° Que les femelles absorbent plus de matériel septique que les mâles et qu'elles en conservent plus longtemps dans l'intestin;

2° Que le bacille de Stefansky se garde vivant dans le tube digestif des mouches pendant au moins 4 jours. Les éléments microbiens semblent augmenter de nombre parce que, contrairement aux substances azotées dans lesquelles ils sont contenus, ils ne sont pas attaqués par les liquides digestifs. Ils se concentrent dans une masse de plus en plus faible, mais ils ne se multiplient pas.

Nous n'avons pas d'inoculation d'excréments de mouches, parce qu'il est très difficile de les recueillir frais et que la dessiccation est un agent très actif de destruction des bacilles de Stefansky. Mais il ne nous paraît pas douteux que, si des excréments frais sont émis par des insectes sur une plaie, l'infection puisse se faire aussi sûrement que par l'introduction sous la peau du contenu intestinal.

Il semble, toutefois, que cette éventualité se produise moins communément que quelques auteurs ne l'avaient cru.

Les expériences que nous avons faites, en exposant aux mouches des rats blessés, montrent que, même quand ils se nourrissent sur la plaie, les insectes éloignés depuis 24 heures du matériel septique demeurent inoffensifs. L'émission d'excréments au moment du repas reste donc une exception et ne doit pas être érigée en règle générale.

En résumé : 1° Les mouches véhiculent les germes de la lèpre sur leurs pattes et sur leur trompe.

2° Les bacilles ne meurent pas dans l'intestin de ces diptères.

3° Il n'y a pas émission d'excréments chaque fois qu'une mouche se nourrit.

4° L'infection se fait dans le voisinage du malade, non pas parce que les mouches ne s'en éloignent pas, mais parce que, quand elles s'en éloignent, les germes déposés sur la carapace se dessèchent vite et meurent.

UN THERMORÉGULATEUR A EAU

par L. HEYDENREICH,

Docteur en médecine, à Odessa.

Il existe, même dans les plus grandes villes, des habitations qui n'ont ni gaz, ni électricité. Quiconque voudrait, dans ces conditions, s'occuper de microbiologie, trouverait bientôt bien des difficultés, car pour un travail utile il serait privé d'un thermorégulateur de précision. Comme je me suis trouvé temporairement justement dans ces conditions et comme les régulateurs à capsule ne me satisfaisaient point, je suis tombé sur la simple idée de me servir, au lieu de gaz ou d'électricité, de l'eau en qualité de productrice de pression, et non de dilatation comme on le faisait jusqu'à présent.

J'obtins bientôt des résultats si satisfaisants que je n'hésite pas à les placer au même niveau que ceux obtenus avec l'électricité ou le gaz. Les oscillations n'atteignent que quelques dixièmes de degré, même sous l'action des changements de pression barométrique. Je pense donc être en droit de publier, dès maintenant, la construction du thermorégulateur et de son fonctionnement, d'autant plus que la dépense pendant le travail n'atteint pas, à beaucoup près, celles de l'électricité ou du gaz.

Avant tout, le *thermostat*. Certainement le moins coûteux serait de le faire rond et en zinc. Mais la pratique bactériologique a bientôt abandonné la forme ronde, principalement parce qu'elle était incommode pendant le travail et que, en ouvrant le couvercle, la chaleur s'en allait très vite et demandait trop de temps pour revenir à sa température primitive. En outre la répartition de la température dans le récipient en zinc se fait beaucoup moins uniformément qu'avec le cuivre. Moitié cuivre, moitié zinc, ne peut se faire à cause des courants galvaniques, qui produiraient bien vite de l'usure et des dégâts sérieux. Enfin il faut encore tenir compte de ce que le zinc

est environ trois fois plus mauvais conducteur de la chaleur que le cuivre.

Donc il ne reste que la forme quadrangulaire et la construction en cuivre. De semblables thermostats se trouvent en quantité dans le commerce et de qualité tout à fait supérieure. Seulement, il est à désirer que les fabricants cessent enfin de polir les parois ondulées intérieures. Plus le cuivre brille d'un vif éclat, plus ils croient contenter leurs acheteurs. C'est une erreur. C'est aussi erroné que de faire la fente dans le régulateur de Reichert longue, ou de mettre mes boîtes (1) avec gélatine, nommées depuis boîtes de Petri, au-dessus de la glace, au lieu de les mettre en dessous (car l'air froid ne monte jamais en haut; au contraire, il descend), et pourtant cette erreur est encore très répandue en Allemagne. Une surface ondulée bien polie, en cuivre, rayonne la chaleur à peu près huit fois moins bien que la même surface mate ou granuleuse.

Il s'ensuit donc que la forme quadrangulaire d'un thermostat en cuivre devra être construite avec des parois ondulées et mates, non polies.

Il est vrai que la différence de prix entre les deux thermostats est assez grande, mais la commodité pendant le travail, la meilleure distribution de la température à l'intérieur, la durée plus grande de l'appareil, et enfin l'économie dans le fonctionnement, tous ces avantages devraient ne pas faire reculer l'acheteur devant le prix.

La *cheminée*, qui se trouve au-dessus de la lampe à pétrole, est munie d'une soupape portée par un axe (fig. 4., 2). Cette cheminée a un embranchement à droite, sous un angle de 45 degrés. En faisant tourner cet axe de l'extérieur (3) entre les doigts, on peut ouvrir et fermer l'ouverture entre les deux cheminées par la soupape et donner accès à la chaleur de la lampe dans le thermostat, ou bien, en fermant

(1) Je les ai décrites le premier et m'en suis servi au laboratoire même de Koch, en 1884. J'en avais parlé à feu le professeur Duclaux, pendant mes travaux au laboratoire de Pasteur (rue d'Ulm). C'est en 1885 que je les décrivis, dans la première édition de mes *Méthodes de recherches des microbes*, p. 101 et 126, en russe. J'y ajoutais des dessins. Deux ans plus tard, les mêmes boîtes furent décrites par Petri, dans le *Centralblatt für Bakteriologie*, 1887, t. I, nº 9, p. 279. La même année encore, Macé en parla (*Traité prat. de Bactériologie*, 3e éd., 1887, p. 232).

la soupape, faire échapper la chaleur par l'embranchement à droite. Dans ce cas, le thermostat se refroidira certainement. L'amplitude du va-et-vient de la soupape égale à peu près 50 à 60 degrés.

Si l'on attache à l'axe de la soupape, à l'extérieur de la cheminée (fig. 2., 7), une tige et à l'extrémité de celle-ci, à droite, une autre tige articulée, portant un petit cylindre (fig. 2., 3), on pourra aussi faire jouer la soupape, en levant ou abaissant ce petit cylindre. Ce dernier mouvement, très important pour le fonctionnement de l'appareil, se produit par le relèvement et l'abaissement du mercure dans le tube 4, et celui-ci par le remplissage et l'évacuation d'une colonne d'eau en 5 et 6 (fig. 2.), qui se font automatiquement. La colonne d'eau a une hauteur d'environ 130 centimètres. Cette partie : 3, 4, 5, 6 (fig. 2.), c'est-à-dire *le tube en V* et *le tube à boule*, joue un rôle fondamental dans l'appareil.

Pour faire fonctionner le jeu automatique par lequel l'appareil se remplit d'eau et se vide, il y a un *régulateur* (fig. 3.)(1). Avant de s'en servir on verse, par les tubes 3 et 2, du chlorure de méthylène dans le réservoir 1, jusqu'à ce qu'il atteigne la hauteur de 4 centimètres environ. Ensuite on y verse du mercure jusqu'à 5 ou 6 centimètres de hauteur; enfin, après avoir bouché toutes les ouvertures, excepté le haut de 3, on y comprime, à l'aide d'une pompe de vélocipède, assez d'air pour que le mercure puisse monter jusqu'à 55-56 centimètres, en comptant du fond du réservoir. Comme toute la longueur de la tige 2 comprend 76 centimètres jusqu'à la bifurcation, le niveau du mercure sera à la distance de 20 à 21 centimètres de cette bifurcation. Si maintenant le réservoir du régulateur est plongé dans une eau à 37 degrés, le mercure montera jusqu'à la bifurcation en remplissant, chemin faisant, le petit réservoir de la vis de réglage 4. Pour faire encore monter ou baisser un peu le mercure on n'a qu'à tourner la vis 4, et, pour rendre le régulateur encore plus sensible, on peut envoyer dans le réservoir de l'hydrogène au lieu d'air. Cette dernière opération se fait assez facilement à l'aide d'un cylindre d'hydrogène sous

(1) Je l'ai décrit, dans mon livre *Méthodes de recherches des Bactéries*, 2e éd., 1885, p. 122 (en russe) et encore dans la *Zeitschrift für wissensch. Microscopie*, 1892, t. IX, p. 301 (en allemand).

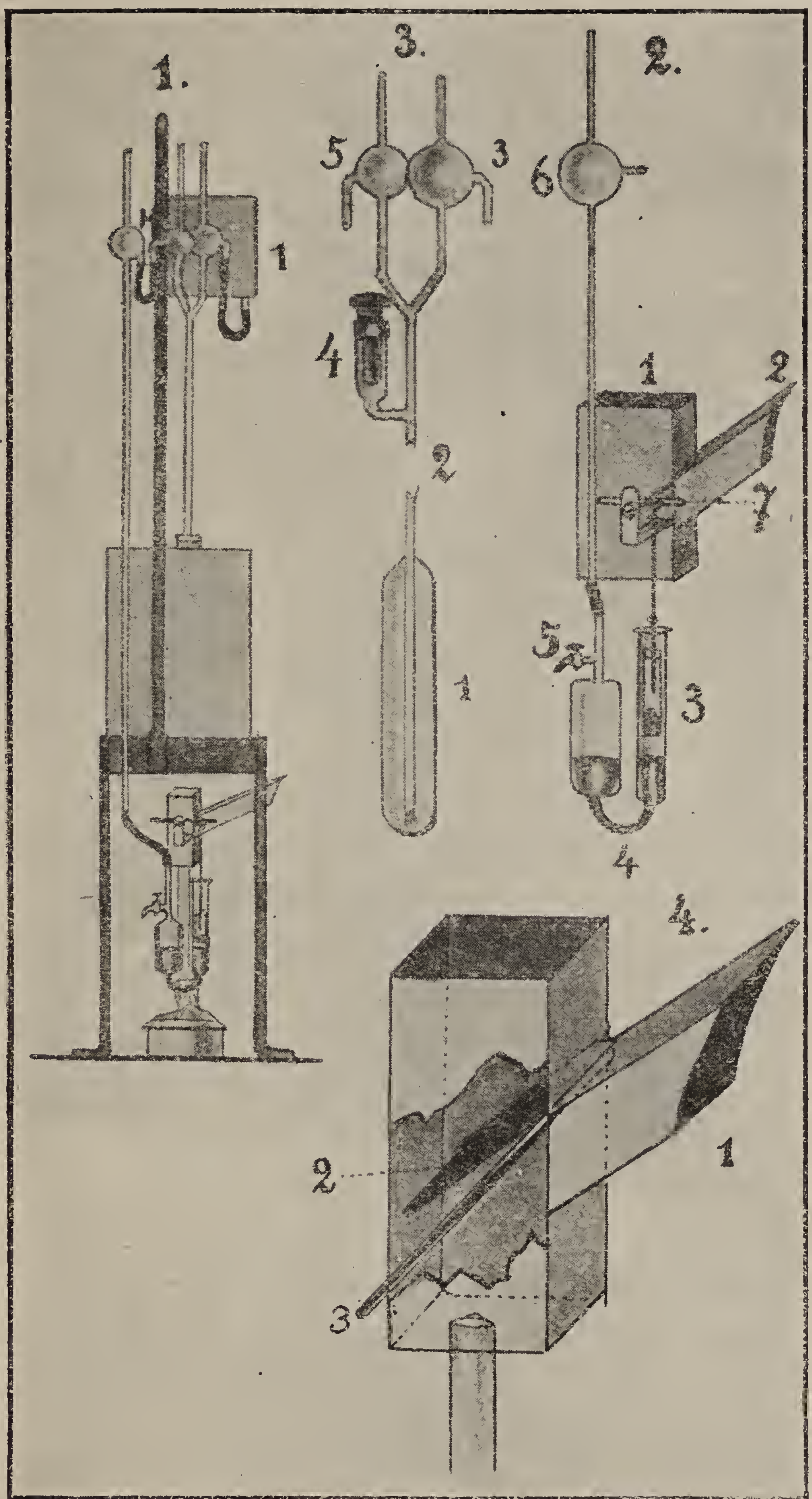
pression et d'une pompe aspirante. L'hydrogène est un conducteur de chaleur à peu près trois fois meilleur que l'air.

Une fois le réservoir du régulateur bien installé et fixé dans l'eau du thermostat, on n'a plus qu'à réunir la boule de droite, 3 (fig. 3.), au niveau d'eau 1 (fig. 1.) et l'autre boule au tube à boule 5-6 de la figure 2. Une fois cette réunion établie, l'eau du niveau d'eau pénétrera par la boule droite du réservoir (fig. 1) à la bifurcation, traversera celle-ci (si le passage est libre de mercure), passera par la boule gauche, entrera dans la boule du tube 5-6 et tombera jusque sur le mercure du tube en V. L'eau finira par monter jusqu'à la hauteur du niveau d'eau, c'est-à-dire jusqu'à 4 ou 5 centimètres au-dessus de la boule, ce qui donne une colonne d'eau d'environ 130 centimètres. La pression de cette masse d'eau sur le mercure sera assez grande pour faire monter le mercure dans le tube 3 de la figure 2., jusqu'à 7 à 8 centimètres. Elle ouvrira donc la soupape dans la cheminée et laissera passer l'air chaud de la lampe vers le fond du thermostat.

Le chlorure de méthylène est très sensible à la moindre élévation de température, chaque degré fait monter le mercure du réservoir à peu près de 20 millimètres; donc, aussitôt que l'accès de la chaleur vers le thermostat sera libre, le mercure du régulateur montera rapidement, fermera l'embouchure de la bifurcation et interceptera le courant d'eau circulant dans les tuyaux. Dès que cela se produira, toute l'eau qui se trouvait dans le tube à boule s'écoulera au dehors par le petit tuyau à robinet 5 (fig. 2.), la pression sur le mercure cessera et la soupape reviendra à sa place primitive, c'est-à-dire qu'elle fermera l'accès de la chaleur au thermostat, et ainsi de suite.

L'écoulement du robinet (fig. 2.) se faisant par gouttes ou par un jet d'eau très mince, il en résulte que l'eau dans le tube à boule ne s'écoule pas d'un trait mais peut parfaitement se tenir tout le temps de l'écoulement au même niveau élevé. Mais dès que le courant d'eau est intercepté dans la bifurcation, l'eau du tube à boule s'en va assez vite et ramène ainsi la soupape à son point de départ, c'est-à-dire qu'elle arrête le réchauffement du thermostat; l'air chaud s'en va dans la chambre par l'embranchement 1 de la figure 4. (ou 2 de la figure 2.) et le thermostat commence à se refroidir.

Ce jeu automatique de l'arrivée de l'eau et de l'ouverture et fermeture de la soupape se fait d'une manière tout à fait pré-



Thermorégulateur. — **1**. Ensemble. **2**. Appareil moteur de la soupape. Sous la pression de l'eau qui arrive par la boule 6, le mercure, chassé dans le tube 4, vient soulever le cylindre 3, qui fait tourner la tige 7. **3**. Régulateur à chlorure de méthylène. Chassé par la dilatation du liquide contenu dans le réservoir 1, le mercure, montant par le tube en V, 2, vient obstruer le passage de l'eau entre les boules 3 et 5. **4**. Détail de la cheminée. L'axe 3 est commandé par la tige 7 de la figure 2.

cise et sûre; il faut seulement de temps en temps prendre soin que le conduit du robinet 5 de la figure 2. ne s'obstrue pas. Le meilleur moyen c'est de mettre dans le niveau d'eau 1 (fig. 1.), sur le départ du tube qui conduit l'eau vers le régulateur, un petit morceau de tamis fin en laiton. Quant à la vitesse de l'écoulement d'eau du petit robinet en 5 (fig. 2.), elle sera bonne si les gouttes se suivent par 1/2 seconde quand la colonne d'eau au-dessus de lui est basse, et si les gouttes ne peuvent plus être comptées ou s'il se forme un mince filet d'eau quand la colonne d'eau atteint son maximum de hauteur.

Pour être sûr de prévenir des retards dans cet écoulement d'eau, on aura soin de nettoyer la petite ouverture au moyen d'un mince fil de métal quelconque. On le fera chaque matin en même temps que le nettoyage de la lampe et son remplissage de pétrole.

Il faudra se servir de grandes lampes qui peuvent brûler pendant deux jours de suite, mais il vaut mieux les nettoyer et les remplir chaque jour. On se servira de même d'un verre d'Iéna de 14-15 millimètres, qui a l'avantage de ne pas éclater. Pour la flamme, il ne faut pas la faire trop grande, autrement la soupape restera presque toujours fermée et l'eau dans le tube à boule ne montera presque jamais. Au contraire, si la flamme est prise trop basse, la soupape restera toujours ouverte et la colonne d'eau dans le tuyau ne descendra plus de sa plus grande hauteur. Le plus avantageux est de faire brûler la flamme un peu plus grande que ne l'exigent les 37 degrés du thermostat.

La dépense de pétrole dépend essentiellement de la grandeur de la flamme dans la lampe. En chiffre moyen la dépense annuelle serait de 114 à 180 kilogrammes (140 à 222 litres de pétrole), ce qui ferait moins de 35 à 55 francs par an. Ces chiffres pourraient se réduire sensiblement si l'on cherchait à diminuer la flamme autant que possible.

La consommation de l'eau n'occasionne aucun frais mais, dans les villes où l'eau est imposée (2 à 3 centimes l'hectolitre), cette dépense, en comptant 50 litres par jour, serait de 1 à 2 centimes, et la dépense annuelle, pour 188 hectolitres, serait de 3 fr. 40 à 6 fr. 20 par an.

Les frais d'exploitation, comme on le voit, ne sont pas grands. Ils sont beaucoup moindres qu'en employant le gaz ou l'électricité.

Enfin il ne faudra pas oublier de mettre un petit entonnoir sous le robinet 5 de la figure 2. et de réunir cet entonnoir au tuyau de descente pour les eaux sales. Cela peut se faire à l'aide d'un tube en caoutchouc, seulement il faudra que l'extrémité du caoutchouc se trouve 5 ou 6 centimètres plus bas que son entrée dans le tuyau et que cette entrée soit hermétiquement fermée autour du caoutchouc. Cette disposition garantit une bonne aspiration de l'intérieur de la chambre vers la gouttière.

ÉTUDES SUR LA GANGRÈNE GAZEUSE

LE BACILLE DE L'ŒDÈME GAZEUX MALIN

(PREMIER MÉMOIRE)

par M. E. SACQUÉPÉE,

Médecin-major de 1re classe.

(Laboratoire de Bactériologie d'une Armée.)

La réapparition de la gangrène gazeuse constitue le trait le plus saillant dans l'histoire des plaies de guerre observées depuis le début des hostilités. Aussi était-il désirable de chercher à élucider les causes de cette complication si redoutable. Dès le début du fonctionnement du Laboratoire, M. le médecin inspecteur général, médecin de l'Armée, m'incitait à entreprendre des recherches sur le sujet.

Des circonstances favorables ont permis de conduire ces études avec fruit. Dès le premier cas observé, une technique appropriée permettait d'isoler un bacille spécial, différent des agents pathogènes déjà connus.

Ultérieurement, une série de résultats analogues confirmaient cette constatation initiale : il est tout à fait certain que le bacille trouvé au début joue dans la gangrène gazeuse un rôle de première importance.

A l'affection que détermine ce bacille chez l'homme, j'ai donné le nom d'*Œdème gazeux malin*; c'est l'agent pathogène spécifique de l'œdème gazeux malin qui est décrit dans ce mémoire.

La première communication sur le sujet est une note verbale sommaire, à la Société de Chirurgie, en date du 19 mai.

Le même jour, un mémoire sur l'*Œdème gazeux malin et son agent pathogène*, était remis à la Société de Chirurgie; ce mémoire était présenté en partie le 26 mai, par M. Quénu (1).

(1) V. *Presse médicale*, 27 mai 1915. — *Bull. et Mém. de la Société de Chirurgie*, t. XLI, 1915, p. 1132.

La note verbale et l'analyse du mémoire sont indépendantes l'une de l'autre.

Le 12 juin, une note à la Société de Biologie donnait du bacille de l'*Œdème gazeux malin* une description plus détaillée, mais toujours conforme à la description primitive (1).

Le mémoire actuel constitue le développement des notes antérieures.

En temps normal, j'aurais peut-être hésité à présenter dans les *Annales* un travail encore incomplet sur certains points; mais, dans les circonstances actuelles, il est utile de faire connaître tout ce qui est susceptible de contribuer à résoudre les problèmes créés ou ravivés par la guerre.

A cet égard, la gangrène gazeuse est au premier plan.

Morphologie.

Aspect microscopique. — La forme du bacille sera étudiée d'une part dans les cultures, d'autre part dans les produits pathologiques.

En cultures. — Décrivons comme types les cultures jeunes, âgées de moins de vingt-quatre heures, en *bouillon Martin* (fig. 1, p. 78).

La longueur des éléments bacillaires est des plus variables; à côté de formes courtes, on peut trouver des formes longues et de véritables filaments. En moyenne, la longueur oscille de 3 à 10 μ; analogue comme dimensions en longueur au vibrion septique (2), le bacille *O. g. m.* est généralement un peu plus épais que ce dernier, mais ce caractère est inconstant.

Les extrémités sont ordinairement soit émoussées, soit franchement arrondies; toutefois, dans les chaînettes, les surfaces d'accolement peuvent se montrer droites ou presque droites.

Les formes bacillaires sont tantôt rectilignes, tantôt sinueuses, assez souvent même incurvées, et prenant la forme d'une canne, d'un *s* allongé, d'une virgule, etc.

Suivant les échantillons, la proportion relative des formes rectilignes et des formes sinueuses, de même que la proportion

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXVIII, 1915, p. 316.
(2) Echantillon *Va.* de la collection de l'Institut Pasteur.

des formes bacillaires et des formes filamenteuses, sont très variables.

Dans la très grande majorité des cas, le bacille présente partout une longueur sensiblement uniforme. Rarement il est, à une extrémité, soit légèrement aminci en fuseau, soit au contraire élargi, l'ensemble prenant la forme d'une bouteille à col très allongé (fig. 2).

Le plus souvent isolés, souvent aussi réunis en diplo-bacilles, les bacilles présentent volontiers des dispositions moins simples : certains se mettent en chaînettes, rarement plus de

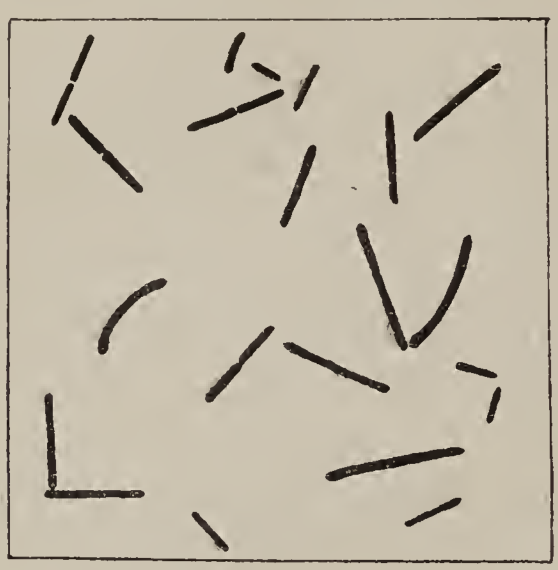


FIG. 1. — Bac. *O. g. m.*
Culture en bouillon Martin, 24 heures.



FIG. 2. — Bac. *O. g. m.*
Culture en bouillon Martin, 24 heures.

5 à 15 éléments, égaux ou inégaux; d'autres se groupent en amas irréguliers et peu cohérents, chaque élément demeurant bien distinct; ailleurs, des bacilles isolés sont accolés à l'extrémité ou sur les côtés d'un bacille généralement plus long, dessinant les lettres L, F, W, Y, etc., comme si une souche commune avait donné naissance à des fructifications terminales ou latérales; mais les articles sont nettement séparés; il s'agit de fausses ramifications (fig. 3).

L'une ou l'autre de ces dispositions domine pour un échantillon. La majorité des souches présentent en nombre prépondérant des bacilles isolés ou des diplo-bacilles, droits ou incurvés, moyens ou longs, avec une proportion variable de filaments, de chaînettes, d'ébauches d'amas et de formes sinueuses. Je n'ai pas vu jusqu'ici de souches exclusivement

filamenteuses ou exclusivement en chaînettes, dans les conditions de temps et de milieu étudiées pour le moment.

Après coloration élective (thionine phéniquée, méthode régressive), certains bacilles sont homogènes, alors que d'autres sont plus irréguliers, le colorant restant fixé à des granulations disposées sur un fond plus clair.

Les aspects morphologiques qui viennent d'être décrits se rencontrent dès le début de la culture (généralement douze à



FIG. 3. — Bac. *O. g. m.*
Culture en bouillon Martin, 24 heures.

dix-huit heures après l'ensemencement); ils varient peu jusqu'à la fin du premier jour. Sur certaines souches, on peut cependant observer qu'au début de la culture il y a surtout des formes moyennes ou courtes, les filaments apparaissant quelques heures plus tard.

Dans la suite, après deux jours de culture, l'aspect s'est ordinairement un peu modifié; les filaments sont plus nombreux; déjà certains bacilles fixent mal les colorants.

Dès le troisième et surtout le quatrième jour on assiste à une véritable involution. Beaucoup des éléments ont perdu la propriété de fixer les colorants électifs, et se colorent comme le fond de la préparation. Parmi eux, certains ont conservé la forme primitive; d'autres paraissent plus larges, étalés, dessinant une sorte de gaine, tantôt vide, tantôt parsemée de quel-

ques points chromatiques, dont l'assemblage peut simuler une courte chaînette de streptocoque auréolé; il en est qui se fusionnent entre eux et peuvent dessiner une sorte de réseau. D'autres présentent des bosselures, d'autres encore s'effilent aux extrémités; des filaments sont tordus sur eux-mêmes. Mais, au milieu de ces formes multiples d'involution, il persiste un nombre appréciable de bacilles d'apparence normale, ayant conservé la forme et l'aptitude tinctoriale primitives.

Plus tard, le nombre des bacilles d'apparence normale diminue progressivement; mais ils semblent ne disparaître tout à fait que bien tardivement, car après trois et parfois six semaines, on retrouve de très rares exemplaires de bacilles bien colorables, au milieu d'une masse peu distincte de cadavres microbiens,

*
* *

L'évolution du bacille, telle que nous venons de la décrire, se retrouve sans modifications appréciables dans la plupart des milieux liquides artificiels : bouillon ordinaire, bouillon lactosé, bouillon mannité, etc.

Toutefois, dans certains milieux, on observe des modifications de détail. C'est ainsi que, dans les cultures en *bouillon glucosé* à 2 p. 100, surtout après quarante-huit heures, à côté des formes signalées dans le bouillon Martin, on rencontre souvent en grand nombre des éléments plus épais et plus courts, plus trapus, avec formation de chaînettes plus nombreuses et plus longues, occupant parfois tout le champ du microscope. En *bouillon maltosé*, l'aspect est analogue, mais les formes courbes ou sinueuses sont plus abondantes ou même très prédominantes (fig. 4). En bouillon glucosé comme en bouillon maltosé, l'involution, quoique précoce, est peu marquée au début, beaucoup de bacilles gardant pendant plusieurs jours (parfois huit jours) leur morphologie et leurs aptitudes tinctoriales. Il faut observer que le glucose et le maltose sont tous deux attaqués fortement, et il est vraisemblable que les particularités morphologiques en milieux maltosés ou glucosés sont la conséquence des modifications engendrées par la présence d'un sucre fermentescible.

En milieux albumineux, spécialement dans le sang, les éléments sont souvent trapus et présentent une tendance à se placer en chaînettes.

En gélose Veillon (cultures jeunes), les bacilles se montrent d'ordinaire moins longs, moins sinueux; la disposition en chaînettes est plus fréquente qu'en bouillon Martin.

Dans les produits pathologiques et dans les tissus, chez l'homme comme chez l'animal, le polymorphisme est moins prononcé que dans les cultures en milieux liquides. Les dimensions des bacilles sont généralement un peu moindres, les formes moyennes ou courtes prédominent de beaucoup.

Chez le cobaye, surtout au point d'inoculation, on observe parfois des éléments plus longs. Il en est de même sur le péritoine; mais je n'y ai jamais vu de véritables filaments. Ordinairement isolés ou en diplo-bacilles, les éléments se disposent plus rarement en courtes chaînettes, spécialement au point d'inoculation.



FIG. 4. — Bac. *O. g. m.*

Culture en bouillon maltosé, 36 heures.

COLORATION. — Le bacille *O. g. m.* se colore facilement par les couleurs d'aniline.

Il prend le Gram.

Cette formule, nécessaire pour les classifications bactériologiques, demande quelques développements.

Comme la plupart des espèces gramophiles, le bacille *O. g. m.* prend d'autant mieux le Gram que les cultures sont plus jeunes. Mais ce principe est ici porté à l'extrême. D'autre part, même dans les cultures jeunes, les bacilles ne conservent le Gram qu'après action prolongée des réactifs.

S'adresse-t-on par exemple à des cultures de quinze heures en bouillon normal, ce qui marque habituellement le début apparent de la culture dans nos conditions d'opération, on obtient d'ordinaire les résultats suivants :

Après *traitement rapide* (1) par le Gram, beaucoup de bacilles ne gardent pas le violet (sont teintés en rouge);

Après *traitement prolongé* (2), la plupart des bacilles gardent le violet, mais quelques-uns ne l'ont pas fixé;

Après *traitement très prolongé* (3), tous les bacilles ont gardé le Gram.

(1) Gram rapide : violet phéniqué, 15 secondes; solution iodo-iodurée forte, 15 secondes; décoloration par l'alcool-acétone; recoloration du fond par la fuchsine phéniquée au centième, 20 secondes.

(2) Gram prolongé : violet phéniqué, 45 secondes; solution iodo-iodurée, 45 secondes; le reste comme ci-dessus.

(3) Gram très prolongé : violet phéniqué, 5 minutes; solution iodo-iodurée, 5 minutes; le reste comme ci-dessus.

6

Après vingt-quatre heures, dans les mêmes conditions d'opération, l'aptitude à prendre le Gram est déjà très sensiblement amoindrie pour un grand nombre de bacilles; elle est parfois complètement nulle. Plus tard, le nombre des éléments gramophiles devient insignifiant.

Dans les tissus, les bacilles se comportent pour la plupart comme les bacilles jeunes des cultures, mais leur aptitude à prendre le Gram est plus développée.

Capsule. — Autour du corps bacillaire se trouve un espace libre, une capsule.

Très net chez certains échantillons, moins perceptible chez d'autres, cet espace libre paraît faire défaut pour un petit nombre d'éléments. Il dessine régulièrement le contour du bacille, et englobe en un seul bloc les éléments des chaînettes. Sans s'imposer habituellement à l'œil comme la capsule du pneumocoque, cet espace libre est parfois assez développé et sa largeur atteint celle du bacille; le plus souvent, ses dimensions sont moindres.

Il s'est montré plus net dans les milieux albumineux (sang surtout), mais avec un peu d'attention on peut le retrouver dans presque tous les milieux, y compris les milieux habituels, de même que dans l'organisme (Planche I, fig. 1).

Cet espace libre ne se colore que difficilement.

Mobilité. — Dans les conditions habituelles d'examen, entre lame et lamelle, les bacilles provenant de cultures en milieu liquide (y compris les cultures en milieux albumineux) ne se sont jamais montrés nettement mobiles. Certains présentent des oscillations sur place, d'autres peuvent présenter des déplacements limités et très fugaces, d'autres sont tout à fait immobiles.

En partant des tissus organiques, il n'en est pas toujours ainsi : dans les mêmes conditions d'examen, certains échantillons sont nettement mobiles; la plupart ne présentent qu'une mobilité légère, parfois nulle. Mais la mobilité, quand elle existe, ne peut être appréciée que dans des circonstances particulièrement favorables : il faut s'adresser à un animal mort depuis peu de temps, le cadavre n'étant pas encore refroidi ; il faut en outre opérer très rapidement, de sorte que l'examen puisse être pratiqué en quelques secondes, en ayant soin de chauffer légèrement lame et lamelle. Avec toutes ces précau-

tions, on peut constater que certaines races se déplacent vivement dans le champ du microscope, mais leur mobilité est éphémère; très rapidement, en quelques secondes, l'amplitude des mouvements s'atténue, et bientôt il ne reste plus qu'une sorte de mouvement brownien, qui disparaît lui-même à son tour.

D'autres races sont moins mobiles; même dans les meilleures conditions d'examen, telles qu'elles sont précisées ci-dessus, on n'observe pas autre chose que des oscillations de faible amplitude et dans un champ limité, mobilité de chien à l'attache; ou bien des mouvements extrêmement lents, perceptibles seulement lorsqu'on repère les éléments microbiens par rapport à un point fixe de la préparation, comme les globules rouges ou les globules blancs. Il est enfin des échantillons qui ne présentent pas de mobilité appréciable.

Le caractère de mobilité ou d'immobilité, si important pour la plupart des bactéries, ne peut donc être exprimé dans le cas particulier en une formule simple. Il est probable qu'avec des moyens d'observation plus perfectionnés, on pourrait parvenir à mettre en évidence la mobilité dans tous les cas. Au point de vue doctrinal, et d'après les bases habituelles de classification, la question peut être posée de savoir s'il est possible de ranger dans une même espèce des microbes mobiles et des microbes immobiles; aucune raison sérieuse ne m'engage à opérer une dissociation basée sur la mobilité seule, en présence d'une série de microbes si bien liés par ailleurs au nom de leur origine, de leurs caractères généraux et de leurs propriétés pathogènes. Il faut ajouter que nous nous trouvons ici en présence d'une bactérie bien spéciale, dont les exemples sont rares : elle est à la fois capsulée et, comme nous le verrons, ciliée. Les bactéries ciliées sont généralement mobiles, mais inversement les bactéries capsulées sont généralement immobiles. Peut-être la mobilité on l'immobilité sont-elles fonctions du développement relatif de la capsule et des cils? Question morphologique non résolue jusqu'ici.

Cils. — Les procédés spéciaux permettent de mettre en évidence des cils vibratiles.

Sur les bacilles très jeunes provenant de milieux liquides, les cils se montrent en nombre variable; de quatre à huit, en moyenne, leur nombre est parfois moindre, et inversement peut s'élever à vingt ou même davantage. Il est bien évident que le nombre des cils est susceptible de varier un peu suivant l'âge des microbes, la compositiou des milieux, le dispositif de culture. L'espèce est nettement et richement ciliée, c'est tout

ce qu'il y a lieu de retenir; qu'elle soit un peu plus ou un peu moins chevelue, c'est assez naturel, et il en est de même pour les meilleures espèces microbiennes ; mais il serait inadmissible de se baser sur le nombre de cils pour établir entre les divers échantillons une séparation valable.

Les cils sont péritriches; presque toujours longs ou très longs, atteignant facilement deux et trois fois la longueur du corps bacillaire. Généralement simples, ils se montrent parfois anastomosés entre eux, ou bifurqués, surtout à l'extrémité libre. Ils dessinent des spires larges et irrégulières.



FIG. 5. — Bac. *O. g. m.*

Cils. Culture 18 heures, en bouillon Martin ; coloration par le Nicolle-Morax.

Quand on réussit à mettre en évidence à la fois la capsule et les cils, on peut constater que certains cils prennent naissance sur la capsule, alors que d'autres vont plus loin et atteignent le corps bacillaire (Planche I, fig. 2). Il est bien vraisemblable que ces derniers passent en réalité en avant ou en arrière du bacille (par rapport à l'œil de l'observateur) et qu'eux aussi vont s'insérer sur la capsule. Aussi doit-on admettre que tous les cils s'insèrent non sur le corps microbien lui-même, mais sur la capsule qui l'entoure.

SPORES. — En raison même des conditions étiologiques dans lesquelles se développe la gangrène gazeuse, il est certain que les agents susceptibles de la provoquer sont des germes doués d'une très grande résistance, et par conséquent sporulés, puisque la spore constitue la forme de résistance habituelle des bactéries.

Le bacille *O. g. m.* est en effet sporulé.

Les spores (Planche I, fig. 3) se rencontrent souvent dans les tissus, chez l'homme malade, comme chez l'animal inoculé. Elles se trouvent de préférence au niveau des lésions les plus accentuées, c'est-à-dire dans les points où la végétation du germe est relativement la plus ancienne.

Après inoculation du bacille au cobaye ou au lapin dans les masses musculaires, on constate souvent l'existence de bacilles sporulés au point d'inoculation, et parfois aussi à quelque dis-

tance ; dans le tissu cellulaire des flancs, par exemple, lorsque l'inoculation a été faite dans la cuisse.

Chez l'homme, les bacilles sporulés se trouvent surtout dans le tissu musculaire très altéré, gangrené ou en voie de destruction.

In vitro, les spores se forment dans les différents milieux liquides utilisés jusqu'ici, mais avec une rapidité et une abondance très variables. En bouillon ordinaire, en bouillon Martin, elles apparaissent en vingt-quatre ou quarante-huit heures et leur nombre augmente dans la suite ; au quatrième jour, on peut ordinairement les trouver sans peine; dans les cultures âgées, elles sont abondantes, sans atteindre par exemple la prolifération luxuriante du *B. Sporogenes*. Comme on peut s'y attendre, il y a à cet égard des différences individuelles assez marquées; la plupart des souches donnent peu de spores, d'autres en donnent davantage.

En bouillon additionné de 2 p. 100 de glucose, les spores demeurent rares; après deux ou trois jours de culture, il faut examiner assez longuement pour en découvrir quelques exemplaires. La présence du glucose, au moins en quantité notable, semble donc mettre obstacle à la sporulation.

En bouillon lactosé, de même que dans le lait, la sporulation est généralement d'intensité moyenne, intermédiaire entre celle qu'on observe dans le bouillon Martin et dans le bouillon glucosé.

La sporulation, assez limitée dans les milieux précédents, peut être activée dans les conditions suivantes : on met à l'étuve, dans le bouillon ordinaire, ou l'eau physiologique, un cube de tissu musculaire (ou, en cas de généralisation, la rate entière) d'un animal mort d'œdème gazeux malin. Après vingt-quatre ou quarante-huit heures, les spores sont habituellement nombreuses, et le deviennent davantage encore dans la suite. On obtient le même résultat en portant à l'étuve, en bouillon ordinaire, un fragment de tissu musculaire provenant de l'œdème gazeux malin de l'homme.

Les spores, très visibles sans coloration sous forme d'espaces clairs, se colorent par les procédés spéciaux classiques.

Quel que soit le milieu où elles se sont formées, les spores sont *généralement oblongues*, plus rarement *ovalaires*.

Dans les tissus organiques, la plupart des spores se montrent incluses dans les corps bacillaires. Dans les cultures *in vitro*, elles se libèrent relativement tôt; en surveillant journellement les cultures, on arrive toutefois à trouver des bacilles sporulés, surtout lorsqu'on s'adresse aux milieux où la sporulation est la plus active (culture en tissus ou organes).

Vues dans le corps bacillaire, les spores sont ordinairement *subterminales*, une sorte de capuchon microbien, d'épaisseur variable, débordant à la périphérie. Plus rarement elles sont franchement terminales ou nettement médianes. Dans la règle, chaque bacille ne porte qu'une seule spore ; exceptionnellement,

il en porte deux, une à chaque extrémité. Elles sont généralement disposées suivant l'axe du bacille, parfois inclinées par rapport à l'axe. Dans leurs premiers stades de développement, les spores ne forment pas de saillie appréciable sur les bords du bacille. Mais à mesure qu'elles se développent, elles forment une protubérance plus accentuée. L'ensemble du bacille avec la spore affecte alors la forme d'un battant de cloche, à battant plus ou moins gros, ou même la forme en raquette.

Après coloration, les spores teintes en rouge se montrent, au début, entourées d'un espace clair, qui n'a pris ni le colorant spécifique, ni la couleur du fond. Il s'agit probablement d'une partie de spore encore incomplètement formée.

Une fois libre, la spore se montre ordinairement entourée d'une cuticule, peu épaisse après coloration, et assez souvent un peu effilochée.

Cultures.

Le bacille *O. g. m.* se développe assez facilement dans les milieux de culture.

Les conditions générales de culture sont dominées par cette définition : le bacille *O. g. m.* est un *anaérobie strict*.

C'est dire que seuls les dispositifs spéciaux aux cultures anaérobies pourront être utilisés pour les cultures.

En ce qui concerne le degré d'anaérobiose, l'aptitude végétative du bacille *O. g. m.* est renfermée dans les limites approximatives depuis longtemps connues pour le vibrion septique, le bacille tétanique, etc.; à défaut d'anaérobiose absolue, pratiquement irréalisable, l'anaérobiose relative des dispositifs habituels est suffisante.

Dans cet ordre d'idées, et vu les conditions d'installation du laboratoire, les dispositifs suivants ont été ordinairement utilisés, pour les milieux liquides : cultures en tubes hauts, la couche liquide atteignant au moins 12 centimètres de hauteur ; on met au fond du tube 2 cubes de blanc d'œuf cuit. Sitôt avant l'emploi, faire bouillir 20 minutes (ou passer à l'autoclave), refroidir très vite. Immédiatement avant ou après l'ensemencement, additionner d'un peu de sulfure de calcium stérilisé.

Plus rarement, les milieux liquides ont été soumis au vide, suivant les procédés habituels.

En ce qui concerne les conditions thermiques, voici quelques indications : à 15-17 degrés, de même à 20 degrés, le développement a été minime et lent. A 37 degrés, développement très satisfaisant.

Les cultures se font bien en milieux neutres, légèrement acides ou légèrement alcalins.

Milieux liquides artificiels. — *En bouillon Martin*, il se produit d'abord une sorte de nuage autour des cubes d'albumine du fond, puis la masse du liquide se trouble d'une manière homogène et, pendant quelque temps, donne par agitation des ondes moirées, comme une culture de bacille typhique.

Rapidement, l'aspect change : la culture se contracte en grumeaux ou flocons, nageant dans un liquide plus clair; ces grumeaux ou flocons se maintiennent à leur tour un temps variable, grossissant plus ou moins, et finalement se précipitent au fond du tube; on trouve alors une grande colonne de liquide clair, surmontant un dépôt blanchâtre peu épais qui se tasse dans la suite.

Toute cette évolution est rapide; elle se fait d'ordinaire en 36 à 48 heures : Le trouble homogène apparaît entre 12 et 20 heures; quelques heures après, l'état floconneux s'installe; en 36 à 48 heures, le liquide est éclairci en même temps que le dépôt est formé.

On constate en même temps un léger dégagement gazeux.

La description ci-dessus répond à ce qu'on voit habituellement. Il y a quelques variantes de détail : le trouble homogène du début peut être extrêmement fugace; d'autres échantillons ne précipitent pas complètement, il persiste soit un louche extrêmement minime uniformément répandu dans la masse, soit quelques masses nuageuses qui nagent à des hauteurs diverses dans la couche liquide.

L'intensité de la culture est un peu variable d'un échantillon à l'autre.

Dans l'ensemble, l'évolution générale de la culture est bien spéciale et constitue un bon renseignement d'orientation : apparition d'un trouble qui, habituellement homogène au début, devient vite floconneux; éclaircissement rapide par précipitation, en constituent les deux caractères essentiels.

Dans les autres milieux liquides artificiels d'usage courant, l'évolution de la culture ressemble beaucoup à celle que nous venons de décrire; certaines particularités doivent toutefois être signalées.

En bouillon ordinaire, les cultures ont sensiblement le même aspect et la même intensité qu'en bouillon Martin.

L'addition de sucres aux milieux agit de manière différente,

suivant que le sucre est attaqué ou ne l'est pas; le bouillon Martin, additionné de 2 p. 100 de *glucose*, de *lévulose*, de *maltose*, donne une culture luxuriante, plus abondante que les milieux précédents; le liquide demeure trouble plus longtemps, pendant plusieurs jours pour certains échantillons en milieux glucosés et maltosés. Des flocons apparaissent dans la masse trouble et se sédimentent peu à peu.

Inversement, en bouillon Martin additionné de mannite, saccharose, dulcite, glycérine, le bacille se comporte comme en bouillon simple.

Lait. — Dans le lait ensemencé tel que, même en tubes profonds et après ébullition préalable, les cultures se font de manière très inégale, ordinairement très mal.

On obtient des résultats moins irréguliers en ajoutant en outre du sulfure de calcium au moment de l'ensemencement.

Dans ces conditions, le lait est coagulé en quelques jours, trois à huit jours dans la très grande majorité des cas, parfois un peu plus tôt ou un peu plus tard. Le caillot et le sérum sont nettement séparés. D'abord limitée, la coagulation s'étend peu à peu à toute la masse ou au moins à la plus grande partie. Ordinairement le caillot forme un bloc compact; plus rarement il est moins régulier, creusé de logettes, en éponge, ou effrité en grumeaux. La réaction devient faiblement acide (au tournesol). Le dégagement gazeux est faible ou nul.

A la longue, le sérum peut prendre une teinte légèrement jaunâtre ou ambrée.

Après plusieurs semaines, rarement plus tôt, le caillot devient souvent un peu plus transparent (le fait est inconstant); les surfaces, d'abord nettes, se creusent peu à peu de rainures, d'échancrures; le bloc de caséine se disloque en gros fragments qui se détachent de la masse, ou bien tout le caillot se désagrège en petits grumeaux. Il y a donc pour la plupart des échantillons attaque très lente, mais réelle de la caséine.

Cube d'albumine dans l'eau physiologique. — L'ensemencement en eau physiologique, avec cube d'albumine, ne donne pas de développement appréciable.

Sérum liquide. — Dans le vide, culture légère, sous forme de flocons nuageux qui se précipitent rapidement au fond du tube; quelques bulles gazeuses.

Ascite (en tube profond). — Culture minime : trouble uniforme à peine perceptible, quelques bulles gazeuses ; précipitation rapide.

Milieux solides : Colonies isolées en gélose glucosée nitratée. — Il est nécessaire de préciser les caractères de cultures en milieu de Veillon (1), car c'est de là que doivent partir les premiers isolements.

Beaucoup d'échantillons se montrant gazogènes, il importe de s'adresser exclusivement aux tubes renfermant de rares colonies bien séparées.

Après repiquages multiples en milieux artificiels, il arrive fréquemment que les caractères de culture en milieu de Veillon se modifient plus ou moins; manifestation d'accoutumance ou de dégénérescence, plus marquée quand on s'adresse aux formes bacillaires, cette modification est moindre, sans être nulle, quand on ensemence des spores, obtenues par chauffage (V. p. 94) des cultures âgées primitives, ou des produits pathologiques. Aussi y a-t-il lieu de décrire la forme d'évolution normale, et de faire connaître ensuite quelques modifications spéciales aux cultures accoutumées.

Forme normale. — L'évolution normale peut être subdivisée en trois périodes : tout d'abord les colonies se développent, période d'efflorescence; une fois au plein de leur développement, elles se modifient, continuant à vivre ou à s'accroître sur certains points, alors qu'elles s'estompent sur d'autres points; enfin elles dégénèrent en totalité : période de déclin.

Il faut être prévenu que la germination se fait souvent par bouffées : certaines colonies commencent à apparaître, alors que d'autres sont déjà en pleine évolution. Les colonies apparues les premières seront considérées comme normales. Au contraire, les colonies apparues avec un retard notable présentent très souvent une évolution atypique ou un développement incomplet.

Phase d'efflorescence. — Après 24 heures à 37 degrés, les colonies normales sont bien visibles à l'œil nu; les détails

(1) Bouillon gélosé glucosé, nitraté à 0,8 ou 1 p. 100 de gélose et 1,5 p. 100 de glucose. Ces proportions doivent être respectées, sans quoi les caractères des colonies peuvent être profondément modifiés.

seront étudiés à la loupe, par transparence, avec un très bon éclairage. Elles se composent d'un centre opaque, jaune brunâtre, entouré d'une auréole plus claire, paraissant un peu argentée par transparence, à bords irréguliers, tantôt crénelés, tantôt simplement festonnés, plus rarement hérissés de courts filaments (planche I, fig. 4, A).

Après 48 heures, le volume est à peu près double, environ 6 à 12 dixièmes de millimètre. La texture générale comporte encore un noyau avec une auréole, de mêmes nuances que précédemment. Généralement opaque, très rarement un peu plus clair en quelque point, le noyau forme la plus grande partie de la masse. L'auréole, ordinairement très distincte, est parfois limitée à un simple liséré périphérique. A la loupe, elle se



Fig. 6. — Bac. *O. g. m.*

Colonie âgée de 36 heures en milieu de Veillon.
Grossissement : 30 diamètres.

montre plus ou moins irrégulière, à bords dentelés, crénelés ou festonnés. Dans l'ensemble, les colonies affectent des formes variées, cuboïdes, sphéroïdes, etc. Tant pour la forme générale que pour les détails de structure, il y a des différences appréciables d'une colonie à l'autre.

Au microscope : masse centrale opaque, indistincte, entourée de filaments périphériques en peloton, qui se perdent dans la masse.

A ce moment, la colonie est à son plein développement. Elle s'y maintient plus ou moins; en général, plus longtemps lorsqu'on s'adresse aux spores des premières cultures. Au contraire, les bacilles issus des cultures ultérieures, même sporulées, évoluent rapidement vers la phase suivante : phase de transition.

Phase de transition. — Au cours de cette dernière, les colonies augmentent ordinairement de volume, les dimensions peuvent atteindre 12 à 18

dixièmes de millimètre. Il semble se produire une sorte d'étalement, comme si les bacilles cherchaient au dehors un milieu neuf; la croissance, régulière jusqu'alors, et généralisée à toute la colonie, semble désormais se localiser à certaines parties, centres opaques ou filaments, alors que le reste de la colonie commence à s'effacer.

Les modifications apparentes peuvent se ramener à trois modalités : condensation; dislocation; expansions filamenteuses.

Condensation : La masse, qui formait bloc jusqu'ici, se creuse de crevasses plus ou moins étendues et profondes, qui lui donnent un aspect chagriné ou un aspect de chaîne de montagnes.

Ainsi se trouvent peu à peu dessinés des centres plus opaques, séparés par des intervalles plus clairs formant réseau (planche I, fig. 4, B).

Les *centres opaques* sont le plus souvent distribués sur toute la largeur ; avec leurs lignes plus claires de séparation, ils donnent à l'ensemble un aspect vaguement mûriforme (sphérules accolées) ou tigré, les masses périphériques formant hernie sous l'auréole. — Plus rarement les taches sombres se disposent exclusivement à la périphérie, en forme d'anneau ou de fer à cheval. — Entre les taches, le réseau devient à la fois plus clair et plus large, rongeant de plus en plus les taches sombres ; finàlement, il ne reste qu'une plage peu teintée, parcourue par de gros filaments réticulés de plus en plus rares, et semée de quelques points plus foncés.

La *dislocation* est un processus analogue : les fissures séparent de gros fragments, et la colonie se disloque en plusieurs blocs, séparés à leur extrémité libre mais demeurant attachés par leur base, comme les pétales d'une fleur; ou bien l'écartement est moindre, les fragments ne sont séparés qu'à leur extrémité libre, chacun formant cap ou doigt de gant (planche I, fig. 4, C).

Expansions filamenteuses : Au pourtour de l'auréole, il apparaît de courts filaments disposés sur une grande partie du contour. Il se forme ensuite des houppes de filaments blanchâtres, beaucoup plus longs, saillants au dehors; ces filaments peuvent gagner toute la périphérie.

Suivant les colonies, l'une ou l'autre de ces modifications préexiste ou prédomine.

La dislocation complète, de même que les grosses expansions filamenteuses, sont inconstantes; en opérant dans les conditions indiquées ci-dessus, c'est l'aspect mûriforme, avec prolongements très courts à peine visibles, qui est le plus habituel.

Ultérieurement, *phase de déclin*, les colonies se résorbent peu à peu, il ne reste plus que des plages peu teintées, parcourues de points granuleux disséminés, ou de filaments dissociés, ressemblant aux nervures d'une feuille.

Cet aspect est acquis parfois en moins d'une semaine, plus ordinairement après 10 à 20 jours (à condition que les colonies soient bien séparées) ou même plus tard.

Formes d'accoutumance ou de dégénérescence. — Les bacilles accoutumés aux milieux artificiels sont susceptibles d'évoluer d'une manière sensiblement différente. Parmi les souches entretenues en milieux artificiels, certaines conservent jusqu'ici leurs caractères primitifs, alors que la plupart au contraire se

modifient sensiblement en ce qui concerne leur mode de développement en milieu de Veillon. Ces modifications sont tantôt limitées à quelques colonies, tantôt généralisées.

Les colonies ainsi modifiées évoluent à leur tour suivant un type qui n'a rien d'uniforme. Le plus fréquent est le suivant : Au début, 24 à 48 heures, la colonie a comme ci-dessus un noyau central et une auréole, mais l'auréole est très développée, et donne naissance à des filaments périphériques très visibles et nombreux (planche I, fig. 4, D) ; l'ensemble prend une teinte d'un blanchâtre presque neigeux (1). Au microscope, la structure filamenteuse est perceptible dans la plus grande partie de la masse.

Dans la suite, après l'accroissement habituel, certaines peuvent évoluer très vite, présentant dès le 2e jour ou l'aspect mûriforme, ou des plages décolorées; d'autres donnent naissance rapidement à des touffes de filaments. Ces aspects ne nous sont pas inconnus; ils existent aussi dans les formes types, mais n'y apparaissent que plus tardivement.

Gélose de Veillon en piqûre. — En 24 heures, tige très visible au long de la piqûre, débutant à 12 ou 15 millimètres de la surface ; elle comporte une partie centrale jaune brunâtre, entourée d'une sorte de gaine moins colorée, d'un blanc un peu argenté, à bords plus ou moins irréguliers. En 48 heures, la tige a augmenté de volume ; sur les bords, la gaine se montre plus nettement irrégulière, dessinant des festons, ou des encoches; elle se développe suivant deux ou trois plans, formant une sorte de voile dans la gélose. Il apparaît parfois à la périphérie, du 3e au 8e jour, soit des filaments nettement distincts, soit des expansions plus grossières. Souvent, il se produit une ou quelques bulles gazeuses.

Gélatine. — En gélatine glucosée (gélatine 10 p. 100 ; glucose 1,5 p. 100), aux environs de 15 à 17 degrés, culture lente.

Les colonies apparaissent en 4 à 8 jours, d'abord très discrètes, à peine visibles, n'atteignant leur plein développement qu'après 10 à 20 jours.

Au début, ce sont des masses arrondies ou ovoïdes, blan-

(1) En ce qui concerne leur aspect, ces colonies rappellent celles que donnent en 24 heures certaines colonies du *Bacillus sporogenes* (*sporog. A* de la collection de l'Institut Pasteur).

châtres par réflexion; à la loupe, et par transparence, tantôt l'aspect est uniforme, tantôt on constate un centre plus pâle et une auréole plus claire, dont le bord peut être lisse, crénelé ou dentelé. A l'examen microscopique au début : masse centrale opaque, avec filaments périphériques, soit séparés en touffes distinctes, soit enchevêtrés et comme enroulés autour du noyau. En se développant, ces colonies atteignent un millimètre environ. Secondairement, il apparaît fréquemment à la périphérie des expansions filamenteuses, ordinairement bien visibles mais rares et courtes, parfois très étendues, ou même anastomosées avec celles d'autres colonies.

Certaines colonies sont comme floconneuses, formées de gros filaments enchevêtrés, qui ne se séparent qu'à la périphérie.

Ramollissement ou liquéfaction tardifs (après 4 semaines).

Pomme de terre. — Après ensemencement en surface, dans le vide, il apparaît en quelques jours un enduit luisant, glacé, ressemblant beaucoup à la culture « en traînée de limace » du bacille typhique. L'examen microscopique permet de s'assurer que le bacille s'est développé, mais la prolifération est faible. L'eau de condensation se trouble un peu.

Propriétés biologiques.

Odeur. — Tous les médecins savent que l'odeur est un des symptômes cardinaux de la gangrène gazeuse humaine : odeur spéciale, *sui generis*, impossible à définir exactement, à la fois putride, cadavéreuse, fade, nauséeuse. Parmi d'autres propriétés, tout agent pathogène de la gangrène gazeuse doit être capable de reproduire une odeur équivalente. On l'obtient difficilement en cultures. En milieux additionnés de sucres fermentescibles, l'odeur est surtout celle des acides volatils, dus à la fermentation, odeur aigrelette. Les cultures en bouillons non additionnés de sucres fermentescibles dégagent une odeur différente, légèrement putride et un peu fade, cadavéreuse. Les cultures en tissu musculaire exhalent la même odeur, souvent plus forte.

L'expérimentation reproduit mieux ce grand symptôme : pour obtenir l'odeur très franche, très nette de gangrène gazeuse, il suffit de provoquer chez l'animal une lésion muscu-

laire considérable. On y parvient en injectant chez le lapin, en plein muscle, des microbes débarrassés de toxine suivant la technique indiquée plus loin. A l'ouverture des lésions, l'odeur de gangrène gazeuse est frappante.

Vitalité. — Le bacille *O. g. m.* est très résistant, cette résistance étant le fait des spores. Au bout de plus de treize mois, des souches, conservées à la température ambiante après quelques jours d'étuve, sont toujours vivantes.

A l'égard de la chaleur, les spores possèdent une grande résistance, mais très inégale d'un individu à l'autre pour une même émulsion; c'est ainsi, par exemple, que diverses parties d'une même émulsion, après chauffage pendant un temps variable à 100 degrés, ont donné respectivement, par centimètre cube :

Après 30 secondes	216.000	Après 20 minutes.	660
Après 5 minutes.	15.000	Après 30 minutes.	18
Après 10 minutes.	6.000	Après 45 minutes	1

Au bout d'une heure, toutes les spores ont été détruites.

En réalité, la grosse majorité des spores succombent à l'ébullition, si peu que le chauffage se prolonge; de rares unités résistent jusqu'à 45 minutes.

A des températures inférieures, la résistance est naturellement plus prolongée. Un chauffage à 90 degrés pendant 5 minutes, ou à 80 degrés pendant 45 minutes, a généralement donné des résultats analogues — numériquement — à ceux d'une ébullition limitée à 1/2 ou 1 minute.

Les cultures non sporulées sont beaucoup moins résistantes; elles ont été stérilisées par chauffage à 75 degrés pendant 30 minutes.

Fermentation des sucres. — Pour étudier l'action fermentative d'un germe sur les sucres proprement dits et sur les alcools polyatomiques, ordinairement rangés dans la catégorie des sucres, il est nécessaire de partir d'un milieu ne renfermant pas trace de sucre fermentescible. Les milieux choisis dans ce but ont été : 1° le bouillon Martin, privé de substances fermentescibles par le mode de préparation classique; 2° un mélange

à parties égales de peptone Martin et de blanc d'œuf alcalinisé (1). Ce dernier milieu, employé tel quel, ne se prête pas à la culture du bacille *O. g. m.* Le développement a lieu lorsqu'on ajoute un sucre susceptible d'être attaqué avec quelque énergie.

En peptone Martin — blanc d'œuf additionné de glucose, maltose, lévulose, le bacille se développe largement. La culture s'accompagne d'un dégagement gazeux très net; le tube intérieur formant chambre à gaz est ordinairement rempli de gaz avant 24 heures pour le glucose, avant 48 heures pour le maltose. En même temps, il se forme une sorte de coagulum, dont une partie soulevée par les gaz peut former bouchon à la surface alors que le reste se précipite au fond. En milieu lévulosé, le dégagement gazeux est moindre, mais très appréciable. La réaction au tournesol, après 48 heures, est franchement acide (rouge franc) pour le glucose et le maltose, légèrement acide (rouge vineux) pour le lévulose.

En bouillon Martin (désucré), les constatations parlent dans le même sens : les tubes ensemencés après addition de glucose, maltose ou lévulose, donnent, avec une abondante production de gaz, une réaction acide de mêmes nuances qu'en peptone Martin — blanc d'œuf alcalin.

En présence du galactose, et après trois à six jours d'étuve, la réaction est également acide, mais à un degré moindre que pour les sucres précédents. Avec le lactose, la manite et la dulcite, la réaction acide est à peine perceptible. Quant à la glycérine et au saccharose, leur présence ne paraît pas amener de modifications par rapport aux tubes témoins (ensemencés, mais non sucrés).

Il résulte de là que le bacille *O. g. m.* attaque très énergiquement le glucose et le maltose, encore énergiquement le

(1) *Formule indiquée antérieurement* : Recueillir un blanc d'œuf, ajouter peu à peu et en agitant constamment trois fois son volume d'eau distillée. Alcaliniser en ajoutant, pour cent centimètres cubes de la dilution, un demi-centimètre cube d'une solution de soude au dixième Stériliser à l'autoclave (Sacquépée et Delater).

Dispositif : On dissout dans de la peptone Martin 2 p. 100 de gélatine (en feuilles); on alcalinise, précipite à l'autoclave et filtre comme d'ordinaire; la peptone gélatinée est ensuite répartie en petits tubes (10×8) qu'on remplit à pleins bords, débordants; laisser refroidir. D'autre part, on prépare le milieu sucré voulu : peptone Martin et blanc d'œuf alcalin, parties égales; sucre, 2 p. 100. Le milieu sucré est réparti en grands tubes, 20 ou 22 millimètres, avec cubes de blanc d'œuf comme d'ordinaire. On dispose alors le petit tube de peptone gélatinée, ouverture en bas, dans les grands tubes de milieu sucré. Stériliser. Ensemencer comme d'ordinaire (tubes à peine refroidis; addition de sulfure de calcium). Après refroidissement, on obtient un milieu liquide, faiblement gélatiné, sucré à 1,5 p. 100 environ. Ce procédé, modification d'un procédé antérieurement décrit par un auteur dont le nom m'échappe, permet d'apprécier la fermentation : l'attaque des sucres donne lieu au dégagement de gaz qui montent en partie dans le petit tube formant chambre à gaz. Elle produit également des acides qui peuvent coaguler le blanc d'œuf, déterminant la formation d'un précipité.

lévulose (1). Son action paraît faible sur le lactose, la mannite, et la dulcite; elle n'est pas appréciable en présence de la glycérine et du saccharose.

Action sur le blanc d'œuf cuit. — Après plusieurs mois, le cube du blanc d'œuf cuit n'est pas dissous, dans les conditions de culture indiquées plus haut. Il n'y a même pas d'érosion appréciable des bords.

Un seul des échantillons éclaircit un peu le cube d'albumine après 8 à 10 jours; tous les autres le laissent opaque.

Action pathogène.

L'action pathogène du bacille *O. g. m.* est des plus nettes. Elle est susceptible de se manifester sous des formes assez différentes.

La virulence, comme pour toute espèce microbienne, varie d'un bacille à l'autre; on constate à cet égard, entre les divers échantillons, des différences très marquées; il en sera question plus loin.

D'autres circonstances d'ordre général doivent également être connues ou rappelées. La virulence baisse progressivement au fur et à mesure des repiquages en milieux artificiels; cette atténuation est parfois très rapide : c'est ainsi qu'une souche, nettement virulente au début, s'est montrée avirulente après quatre passages successifs en gélose de Veillon. Conformément aux principes établis, il faudra toujours s'adresser aux spores des cultures souches : c'est en effet la spore qui fixe le mieux les caractères de l'espèce. Même en prenant cette précaution, il s'est produit néanmoins une baisse légère de la virulence au bout de plusieurs mois.

On observe de même des différences appréciables suivant les milieux de culture; on obtient des résultats non identiques suivant qu'on part du bouillon Martin ou du bouillon glucosé (cultures totales) : le premier est plus toxique, alors que le second est plus riche en microbes. Il conviendra donc toujours de préciser quel milieu a été utilisé pour les cultures d'inoculation.

Observation analogue, en ce qui concerne l'âge des cultures. Peu toxiques au début, elles le deviennent davantage dans la suite; aussi les effets produits avec des cultures jeunes et des cultures âgées ne sont-ils pas toujours superposables.

On connaît également l'influence de la voie d'inoculation. L'objet de nos recherches était avant tout de chercher à reproduire chez l'animal des

(1) En bouillon Martin, ne renfermant pas traces de sucre, il y a néanmoins à peu près toujours un léger dégagement gazeux. Cette production de gaz est peut-être due à une attaque de substances albuminoïdes; de nouvelles recherches sont nécessaires à ce sujet.

lésions analogues ou identiques aux lésions observées chez l'homme au cours de certaines formes de gangrène gazeuse.

A ce point de vue, notre guide doit être l'observation; or les dissections anatomiques montrent que la gangrène gazeuse humaine est presque toujours — sinon toujours — d'origine musculaire. C'est pour cette raison essentielle que la voie musculaire a été généralement utilisée.

Le bacille a été inoculé chez trois espèces de laboratoire : cobaye, lapin, souris. Le cobaye et le lapin se sont montrés très réceptifs; aux mêmes doses et par la même voie, le lapin succombe en général à peu près en même temps que le cobaye. Proportionnellement au poids, le lapin est donc plus sensible. Pour l'étude des lésions, les deux espèces peuvent être utilisées. La souris se prête moins bien à l'étude anatomique, en raison du faible volume des masses musculaires; aussi n'a-t-elle pas été utilisée de manière suivie. Il suffit de signaler une fois pour toutes qu'elle se montre également sensible aux inoculations, avec lésions très analogues à celles qu'on reproduit chez le lapin ou le cobaye.

* * *

Inoculation de bacilles seuls. — Expérimentalement, le bacille *O. g. m.* se montre toxique; une part de son action pathogène est due à la toxine. La toxine se forme dans les cultures comme dans l'organisme; mais dans la pathogénie de la gangrène gazeuse humaine, il est de toute évidence que le germe est inoculé seul, sans toxine; si l'on veut ne pas trop s'éloigner du mécanisme de l'infection naturelle, il convient donc d'étudier tout d'abord les réactions que provoque chez l'animal l'inoculation de microbes seuls, débarrassés de la toxine qui les accompagne dans les cultures.

Les procédés de préparation sont simples : une culture de vingt-quatre heures en bouillon Martin est centrifugée; le culot, débarrassé du liquide surnageant, est dilué dans l'eau physiologique. Ou bien on filtre la culture sur bougie Chamberland; on fait filtrer ensuite de l'eau physiologique, et le dépôt formé sur la paroi est finalement repris dans une quantité d'eau physiologique telle, que l'émulsion obtenue présente une turbidité comparable à celle que donne l'émulsion dans 50 cent. cubes d'eau physiologique, d'une culture de bacille typhique (1) vingt-quatre heures sur gélose inclinée

(1) Échantillon *amb.*, de l'Institut Pasteur.

(tube 15 × 15). Les doses faibles, suivant les échantillons, ont varié de 0,3 à 1,5 cent. cube, les doses fortes de 0,6 à 2,5 cent. cubes. Le culot ou le dépôt, ainsi débarrassé de toxines. sont inoculés dans les muscles du lapin et du cobaye. Pour cette expérience, il est plus rigoureux d'opérer chez le lapin; les masses musculaires étant plus volumineuses, on a plus de facilité pour inclure l'émulsion injectée en plein tissu musculaire, alors que chez le cobaye, une partie du liquide peut refluer dans les interstices des muscles. Mais, d'autre part, certaines lésions sont plus apparentes chez le lapin, d'autres le sont davantage chez le cobaye. Il faut donc étudier les effets de l'injection sur les deux espèces animales.

Chez le cobaye inoculé de *doses faibles*, dans les muscles de la cuisse ou de la fesse, la réaction locale est apparue d'abord sous forme de tuméfaction en masse, au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, suivant les cas ; puis la tuméfaction s'étend à l'aine, au flanc; la crépitation gazeuse peut exister mais n'est pas constante. La patte inoculée devient froide, glaciale; très tuméfiée, elle présente souvent des teintes diverses localisées : teinte violet livide, brunâtre, jambonnée, ecchymotique, bronzée, verdâtre; il apparaît parfois des phlycténes. La mort est survenue en soixante à cent heures.

A l'autopsie, on constate des lésions toujours accusées, variables dans leurs détails. *Au point d'inoculation* (fesse), il s'est formé un foyer gazeux, renfermant plus ou moins de sérosité brunâtre ou rosée, avec des bulles gazeuses. Cette cavité, parfois minime, peut occuper un cinquième de la masse de la fesse. Les *muscles* voisins sont atteints : tuméfiés en masse, leurs fibres sont dissociées une à une; tantôt elles sont uniformément pâles, blanchâtres ; plus ordinairement certaines parties sont rouge livide, rouge ecchymotique, brun foncé, d'autres sont simplement hyperémiées; d'autres plus limitées sont pâles (par rapport aux muscles sains). Le tissu altéré se rompt ou s'écrase sans effort. Cette lésion musculaire se propage surtout dans la continuité des muscles : l'extension en continuité gagne volontiers toute la cuisse, alors que des masses musculaires, contiguës aux lésions maxima, peuvent paraître presque indemnes. Cet aspect est parfois très démonstratif sur la ligne médiane, où les attaches des muscles, du côté inoculé, peuvent se montrer très atteintes, alors que les attaches tout à fait contiguës des muscles symétriques se montrent à peu près normales, ou beaucoup moins attaquées. Plus loin, au mollet, à la face antérieure de la cuisse, le tissu musculaire est moins altéré.

Dans les muscles les plus atteints, l'incision donne issue à une sérosité teintée en brun, en rouge sombre, en rose ; la pression permet parfois de faire sourdre quelques bulles gazeuses. Au même niveau, il peut exister des gouttelettes huileuses surnageant le liquide exsudé.

L'*œdème* infiltre le tissu cellulaire, dans les régions où il se prête à la distension : spécialement dans la région voisine, souvent dans l'aine, les flancs, devant la paroi abdominale, parfois jusqu'aux aisselles. A proximité des lésions, cet œdème est teinté en rose, en rouge brun, en brun livide; plus loin, la coloration est moindre; à la limite, l'œdème est pâle, incolore. Ordinairement consistant, gélatiniforme dans toute son étendue, il ne s'écoule que peu ou pas après section des tissus ; en quelques points, spécialement à proximité du point inoculé, il n'est pas rare qu'il soit plus libre dans les tissus et qu'il s'écoule sans difficultés.

L'*infiltration gazeuse* est variable : parfois limitée à la région inoculée, elle gagne ordinairement l'aine voisine où les bulles peuvent s'accumuler pour former une petite cavité enfouie profondément dans le tissu cellulaire; quelques bulles se retrouvent encore assez fréquemment dans le flanc voisin et dans l'aine opposée, rarement plus loin.

Plus inconstantes, mais bien intéressantes sont les *transformations nécrotiques* de certains tissus. On note assez souvent une teinte blanc jaunâtre, avec une sorte de coagulation en masse du tissu cellulo-adipeux et fusion des divers plans anatomiques superposés, spécialement à la région pubienne et au voisinage du point d'inoculation : l'aspect est à peu près celui d'un bloc de mastic. Plus rarement, le tissu cellulaire et la peau ont pris une teinte verdâtre, ou une teinte brun livide qui rappellent les transformations des tissus sur le cadavre.

Certains viscères sont plus ou moins touchés : le foie se montre presque toujours pâle dans son ensemble, parfois parsemé d'îlots blanchâtres; sur l'estomac, on relève de temps à autre des ecchymoses, sans perforation de la paroi.

La *multiplication des bacilles* dans l'organisme est toujours appréciable en pareil cas, bien que variable d'un germe à l'autre. Ordinairement l'examen direct permet de trouver des bacilles assez nombreux (avec quelques spores) dans la région

inoculée et dans les muscles les plus atteints; ils se montrent plus rares déjà dans l'œdème voisin, et on n'en retrouve plus que très peu ou pas du tout dans l'œdème éloigné de la lésion. Sur le péritoine, la présence des bacilles paraît presque constante; ils sont tantôt nombreux, tantôt extrêmement rares.

Dans le foie, la rate, le rein, les capsules surrénales, les bacilles sont très rares ou ne se retrouvent pas par examen direct. Ensemencé, le sang du cœur donne généralement lieu à culture : une ou quelques colonies par goutte.

Après inoculation de *doses fortes*, la mort survient plus vite, en vingt-quatre à quarante-huit heures. Les lésions sont de même ordre que les précédentes, mais moins accusées à certains égards : la cavité d'inoculation peut faire défaut; l'infiltration gazeuse et l'œdème sont souvent moindres; la multiplication du bacille est variable, considérable pour certains bacilles, faible pour d'autres; la généralisation est inconstante.

L'inoculation de *doses énormes* peut donner des lésions beaucoup moins avancées et beaucoup moins étendues, ressemblant à celles que produit l'inoculation des cultures totales de bacilles très toxiques, avec peu de multiplication des bacilles. Il est évident qu'en pareil cas, très éloigné des conditions naturelles, l'organisme est comme sidéré d'emblée.

* * *

Chez le lapin, l'inoculation de *doses faibles*, dans le tissu musculaire de la fesse, a amené la mort en trente à cinquante heures. Les lésions constatées rappellent dans leurs grands traits celles que nous avons vues chez le cobaye; certaines plus perceptibles frappent davantage. Là encore, au premier examen, les lésions fondamentales sont évidentes : œdème, altérations musculaires, infiltration gazeuse; la région atteinte dégage une odeur forte et typique, identique à l'odeur de la plupart des gangrènes gazeuses humaines. L'œdème, tantôt minime, tantôt amassé sur 2 centimètres d'épaisseur vers la région inoculée, gagne l'aine, le flanc, parfois davantage; pâle à la limite, souvent rosé ou hémorragique vers l'aine, plus livide, violacé, autour de la région inoculée. L'infiltration gazeuse est de même apparente : les gaz se retrouvent comme chez le cobaye, entre les muscles, et à distance plus ou moins grande, souvent vers l'aine où ils peuvent former une véritable écume : on les voit dessiner à la surface de la cuisse, dans le tissu musculaire qui enrobe la masse musculaire, une

sorte de manchon. Les *altérations musculaires* surtout peuvent être ici étudiées avec fruit. Dans la région inoculée, le muscle est tuméfié, les fibres sont dissociées, nettement séparées une à une, leur consistance est diminuée, elles s'écrasent à la pression ; à la section de la masse, le tissu musculaire fait hernie dans l'incision ; la surface laisse suinter une sérosité colorée, rosée ou brunâtre ; à la pression, parfois même spontanément, il sort de fines bulles gazeuses qui viennent crever en bouillonnant. Une observation attentive permet de se rendre compte que ces bulles gazeuses viennent bien du tissu musculaire lui-même (et non du tissu conjonctif intermusculaire). Parfois, le muscle paraît creusé de petites logettes vides. Suivant les points, le tissu musculaire altéré se montre de coloration anormale, ici rouge sombre, livide, ailleurs rouge vif, de teinte hémorragique, ailleurs encore pâle, décoloré ; ces alternatives de teintes peuvent se retrouver sur la surface de section d'un seul muscle, des plages blanchâtres alternant avec des zones vivement colorées. Dans l'ensemble, c'est le ton foncé qui domine : la masse inoculée est beaucoup plus colorée que la région symétrique, quand cette dernière est indemne. La décoloration avec teinte blanchâtre du muscle se voit de préférence soit à l'origine de la lésion, dans le foyer initial, soit à sa limite, au delà des muscles foncés : cette décoloration paraît répondre à deux processus ou à deux stades différents de l'infection, l'un initial, l'autre tardif (1).

En résumé, l'inoculation intramusculaire de bacilles virulents débarrassés de toxine provoque des lésions multiples : altérations musculaires, plus ou moins profondes et étendues, plus faciles à étudier chez le lapin ; œdème, ordinairement considérable, coloré au voisinage de la lésion, pâle ou incolore à distance ; infiltration gazeuse, prédominant au point d'inoculation et dans la masse voisine, susceptible de s'étendre un peu

(1) Il en est exactement de même dans une des formes les plus habituelles de la gangrène gazeuse humaine. Dans cette forme, la lésion musculaire occupe à peu près la valeur d'un segment de membre. La fraction du muscle la plus atteinte est très ramollie et plus ou moins décolorée, souvent elle forme bouillie ; autour, le muscle est au contraire plus rouge, rouge sombre ordinairement, également très ramolli ; à plus grande distance, et généralement sur d'autres muscles, on retrouve un tissu décoloré et dont la consistance est moins diminuée.

au delà, moins étendue que l'œdème; chez le cobaye, tendance nécrotique. La multiplication du bacille dans l'organisme est appréciable, au moins après inoculation de doses faibles.

*
* *

Inoculation de toxine. — Aux lésions provoquées par l'inoculation de microbes seuls, débarrassés de toxine, il est bon de comparer maintenant les lésions provoquées par l'inoculation de toxine seule (1).

Inoculée dans les muscles du cobaye, à dose de 0,03 à 2 cent. cubes, la toxine provoque l'apparition d'une tuméfaction œdémateuse dure, et l'animal succombe en 24 à 48 heures environ. Les doses plus fortes tuent plus rapidement, parfois en 9 heures.

A l'autopsie, les lésions constatées sont sensiblement les mêmes dans les différents cas. Un œdème incolore, gélatiniforme, s'est développé à partir du point d'inoculation. Après injection dans les muscles de la cuisse, l'œdème occupe généralement les deux aines, l'un des flancs ou les deux, atteint parfois l'aisselle. On ne voit pas d'infiltration gazeuse appréciable; inconstamment, quelques bulles erratiques. La masse musculaire inoculée se montre tuméfiée, les fibres sont quelque peu dissociées par l'infiltration séreuse; elles sont pâles, mais peu altérées. Les muscles abdominaux et thoraciques se montrent volontiers légèrement décolorés, comme lavés. Les altérations viscérales sont faibles, ordinairement représentées par une légère décoloration du foie.

Quand, la dose étant plus faible, l'évolution est plus lente, l'animal s'amaigrit avec une rapidité remarquable, en même temps que l'œdème se développe; après plusieurs jours, l'œdème mobile, peut se déplacer vers les points déclives; il peut même se résorber en entier ou en partie. La mort est tardive (5 à 10 jours).

La toxine soluble détermine donc des lésions très nettes : œdème surtout, avec légère altération du foie, sans grosse alté-

(1) L'étude de la toxine, déjà faite en partie (V. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 22 octobre 1915), sera reprise en détail plus tard. Pour le moment, il suffira de rappeler qu'on peut obtenir un filtrat doué de propriétés toxiques, en filtrant une culture en bouillon Martin âgée de 2 à 6 jours.

ration musculaire, sans infiltration gazeuse appréciable, sans tendance nécrotique bien accusée.

* * *

Inoculation de cultures totales. — L'inoculation de cultures totales en milieux liquides demeure le procédé habituel d'épreuve ; c'est ce procédé qui a été utilisé le plus ordinairement. Ce que nous venons d'apprendre de l'action séparée des microbes d'une part, de la toxine de l'autre, facilitera beaucoup l'interprétation des effets constatés.

Nous étudierons comparativement l'action produite par l'inoculation de cultures en bouillon Martin, âgées de 24 heures. La dose communément employée (lapin et cobaye) est de 1 centimètre cube ; la plupart des bacilles produisent d'ailleurs les mêmes effets à dose bien moindre. Pendant la vie, les phénomènes se passent sensiblement comme nous l'avons vu plus haut (inoculation de bacilles privés de toxine) ; les souches les plus virulentes amènent des réactions plus précoces, perceptibles en 5 à 10 heures. La mort survient en moyenne en 9 à 36 heures.

Les lésions constatées à l'autopsie sont toujours du même ordre, mais leur degré de développement présente quelques légères variations. L'ensemble des observations permet de constituer deux types principaux.

1° Dans un premier type, les lésions ne diffèrent pas sensiblement de celles qui ont été signalées chez les animaux victimes de l'inoculation des microbes seuls, débarrassés de toxine : lésion locale ; altérations musculaires intenses dans le voisinage ; œdème, infiltration gazeuse, tendance nécrotique, altérations viscérales, multiplication des germes dans l'organisme, on retrouve ici toutes les manifestations précédemment signalées.

Dans ce premier mode d'évolution, tout se passe comme si on avait inoculé le microbe seul, sans toxine.

2° Le deuxième type, plus habituel jusqu'ici, se montre un peu différent. L'évolution est ordinairement plus rapide que dans le cas précédent. A l'autopsie, on constate que la lésion locale (au point d'inoculation) est faible, marquée par un petit foyer brunâtre ou rougeâtre, d'où émergent quelques bulles gazeuses ; le foyer peut même faire complètement défaut quand la mort est très rapide. Autour du point inoculé, les muscles et leurs interstices se montrent infiltrés par une sérosité incolore, ou

rosée, ou brunâtre; l'altération propre du muscle, parfois apparente sous forme d'hypérémie, est souvent nulle ou très faible. Ce qui domine en pareil cas, c'est l'œdème; œdème pâle, gélatiniforme, incolore, ou légèrement teinté, rose ou brun, près du point d'inoculation; très étendu, couvrant comme un vaste bouclier les deux aines, la paroi abdominale, les deux flancs, la base du thorax, tout ou partie des aisselles. Ce lac d'œdème est d'autant plus frappant que son épaisseur est considérable, mesurant ordinairement 1 centimètre, et en bien des points 2 centimètres et davantage.

Par contre, l'infiltration gazeuse est toujours faible, limitée à la lésion locale, quelques bulles discrètes et erratiques atteignant parfois un peu l'œdème le plus voisin : les bulles gazeuses doivent être cherchées, sans quoi elles passent facilement inaperçues. Il n'est pas exceptionnel d'ailleurs que les gaz fassent complètement défaut. En tout cas, l'infiltration gazeuse n'est qu'un fait tout à fait accessoire dans l'ensemble des lésions anatomiques.

Les lésions à distance sont inconstantes. Les muscles du thorax sont tantôt un peu décolorés, tantôt normaux. Parfois pâle, le foie ne montre le plus souvent aucune altération appréciable.

A l'examen direct, les bacilles se rencontrent dans la lésion locale, près du point d'inoculation. Plus loin, les faits sont inégaux : tantôt les bacilles sont rares, mais néanmoins on peut les déceler assez loin, surtout dans l'œdème voisin, et un examen approfondi permet d'en découvrir des exemplaires isolés sur le péritoine; tantôt on ne trouve aucun bacille ni dans les muscles voisins, ni dans l'œdème, ni sur le péritoine : on peut éprouver quelque difficulté à les retrouver, même dans la région d'inoculation. Les cultures corroborent ce qu'a montré l'examen direct : bacilles peu nombreux localement, rares ou absents à distance. Le sang du cœur ensemencé ne donne pas de culture (à dose de 4 à 5 gouttes). Ce qui est frappant dans cette répartition des microbes, c'est l'absence ou le faible degré de leur multiplication et de leur progression. Dans les cas les plus accusés, on a l'impression de recueillir un nombre de bacilles qui n'est pas très supérieur à celui qui a dû être inoculé; de tels bacilles végètent dans l'organisme du cobaye à peu près

comme le ferait le bacille tétanique : il tue, mais sans se multiplier sensiblement.

Résumons : le deuxième type de lésions consécutives aux inoculations de cultures totales en bouillon Martin comporte essentiellement de l'œdème, incolore ou à peine coloré, gélatiniforme, étendu, non gazeux (ou d'une manière insignifiante), avec une lésion locale et des altérations musculaires effacées, ou même imperceptibles; la multiplication des microbes dans l'organisme demeure faible et très limitée.

*
* *

Est-il de quelque utilité de spécifier que les deux descriptions précédentes sont présentées comme répondant à deux formes anatomo-cliniques *d'une seule et même infection*?

Ces deux formes sont isolées et chacune d'elles étudiée séparément, mais, de l'une à l'autre, il existe toute une série de formes de passage en ce qui concerne non seulement la physionomie d'ensemble des lésions, mais encore chacun des éléments de cet ensemble.

Sans chercher très loin, le souvenir des lésions provoquées respectivement et par la toxine, et par les microbes débarrassés de toxine, peut nous servir sinon d'interprétation définitive, tout au moins de guide. Dans le groupe des lésions dues aux cultures totales, le premier type rappelle l'inoculation de microbes seuls, et le deuxième diffère peu de ce que nous a donné l'inoculation de toxine.

Dès lors on doit admettre l'interprétation suivante : les cultures totales agissent à la fois par leurs microbes et par leurs toxines. Lorsque la souche est peu toxique ou lorsque la toxine ne se forme que tardivement (après 24 heures), la culture totale agit comme le font les microbes débarrassés de toxine. Si, au contraire, le bacille est nettement toxique, — ce qui est la règle — la culture totale agit à la fois par les microbes, et par la toxine préformée : les lésions ressemblant d'autant plus à celles produites par la toxine, que cette dernière est plus abondante.

Cette interprétation est certainement exacte dans la plupart

des cas, mais elle ne paraît pas devoir être schématisée : car certains des bacilles étudiés, bien que comptant parmi les plus fortement toxiques, donnent cependant chez l'animal des lésions rappelant surtout celles du premier type ci-dessus, y compris la multiplication des bacilles à distance. Le pouvoir infectant du bacille ne semble donc pas être uniquement subordonné dans tous les cas à son pouvoir toxique.

Autres inoculations. — Nous venons d'étudier l'action des cultures en bouillon Martin, âgées de 24 heures. Quand on sort de ces conditions, les résultats changent plus ou moins.

Plus âgées, surtout après 4 à 6 jours, les cultures sont plus toxiques, et leur action s'en ressent : les lésions sont alors à peine différentes de celles que produit la toxine seule.

En bouillon glucosé (à 2 p. 100), la végétation du microbe est plus forte en même temps que la toxine paraît se former moins facilement : les échantillons répondant au deuxième type — lésion œdémateuse incolore après inoculation de cultures en bouillon mixte — donneront volontiers des lésions légèrement différentes, si l'on part du bouillon glucosé. L'œdème se montre souvent un peu plus teinté, la lésion locale plus nette, et la multiplication des germes dans l'organisme est plus appréciable.

Dans les deux cas, inoculation de cultures âgées et inoculation de cultures en bouillon glucosé, les résultats sont conformes à ce qu'on pouvait prévoir d'après l'action respective de la toxine et des germes.

Il convient de signaler en outre, à titre de comparaison, les effets produits par l'inoculation de doses limites, de même que les résultats de l'inoculation sous-cutanée.

Doses limites. — Nous appellerons doses limites, celles qui sont juste suffisantes pour amener la mort tardivement, après 8 à 12 jours. Essayée pour 2 échantillons, cette dose limite a atteint respectivement 1/3 et 1/8 de cent. cube. Les lésions constatées à l'autopsie ne sont pas sans intérêt : elles comportent l'œdème gélatiniforme plus ou moins étendu, dans le tissu cellulaire, et localement une sorte de transformation lardacée d'une partie du tissu musculaire dans la région inoculée ; avec ou sans autres altérations peu importantes, cavité au point inoculé, hyperémie musculaire du voisinage. Peu ou pas d'infiltration gazeuse. La végétation microbienne est minime ; on retrouve quelques bacilles dans la lésion locale, il n'en existe pas à distance ni sur le péritoine. Il semble que l'infection ait pu juste en quelque sorte prendre pied, l'animal succombant moins à l'infection proprement dite qu'aux suites de l'intoxication générale, avec un minimum de lésions anatomiques (1).

Inoculation sous-cutanée. — Jusqu'ici nous avons eu en vue exclusivement l'inoculation intramusculaire. Expérimentalement, l'inoculation sous-cutanée

(1) Cette forme anatomique est la reproduction à peu près exacte de ce qu'on trouve chez l'homme dans une forme spéciale de gangrène gazeuse, appelée par les cliniciens *érysipèle blanc*. Cette forme apparaît un peu tardivement ; mais sitôt démasquée (par l'œdème), elle évolue rapidement ; pronostic très sombre.

produit des effets analogues : aux doses employées pour l'injection dans les muscles, la mort se produit dans des délais semblables.

A l'autopsie, on note un œdème très étendu, plus ou moins coloré, plus ou moins gazeux à son point de départ, incolore et non gazeux à distance; les muscles les plus voisins peuvent se montrer tuméfiés et infiltrés par la sérosité. La dégénérescence (état pâle) du foie est ordinairement plus marquée, de même que les diverses manifestations de la tendance nécrotique de la peau et du tissu cellulo-adipeux : durcissement, teinte livide ou mastic. La végétation du bacille se montre le plus souvent assez nette, plus intense qu'après inoculation intramusculaire.

*
* *

Jetant un regard d'ensemble sur l'action pathogène du bacille *O. g. m.*, on est amené à conclure que les lésions provoquées expérimentalement semblent être fonction de deux facteurs, qui ne s'excluent pas l'un l'autre : d'une part les propriétés toxiques *in vitro* et *in vivo*, d'autre part le pouvoir infectant propre du microbe. L'action toxique se traduit surtout par l'œdème et par une atteinte profonde de l'état général. L'action propre du microbe se porte sur les tissus où il prolifère : altérations musculaires, infiltration gazeuse, tendance nécrotique en divers points.

Quant au degré de multiplication des germes dans l'organisme, il est subordonné au moins en grande partie au pouvoir toxique; les bacilles ne se multiplient que dans la mesure où l'action des toxines se montre insuffisante.

PLANCHE I

Bacille de l'œdème gazeux malin.

Fig. 1. — Sérosité péritonéale, cobaye. — Bacilles courts ou moyens; courtes chaînettes. Les bacilles sont entourés d'un espace clair.

Fig. 2. — Culture de dix-huit heures en bouillon Martin. — Cils (coloration par le van Ermengen modifié). Les bacilles sont entourés d'un espace clair; la plupart des cils sont insérés sur le bord de l'espace clair, non sur le corps microbien.

Fig. 3. — Muscle de cobaye inoculé, laissé à l'étuve pendant quarante-huit heures. — Spores colorées.

Fig. 4. — Colonies isolées en milieu de Veillon; examen à la loupe. Grossies cinq fois environ :

A. — Formes normales. Culture de trente-six heures. Voir le noyau, l'auréole, l'irrégularité du contour, la diversité des formes, l'inégalité de dimensions.

B. — Formes normales. Troisième et quatrième jour. Condensation : plages claires et autres opaques.

C. — Formes normales. Troisième et quatrième jour. Dislocation; formation de saillies périphériques.

O. — Formes atypiques. Culture de trente-six heures. Auréole très développée. Expansions filamenteuses très nombreuses, se perdant dans le milieu.

Figures dessinées par M. Legendre, à qui je suis heureux d'adresser mes bien vifs remerciements.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

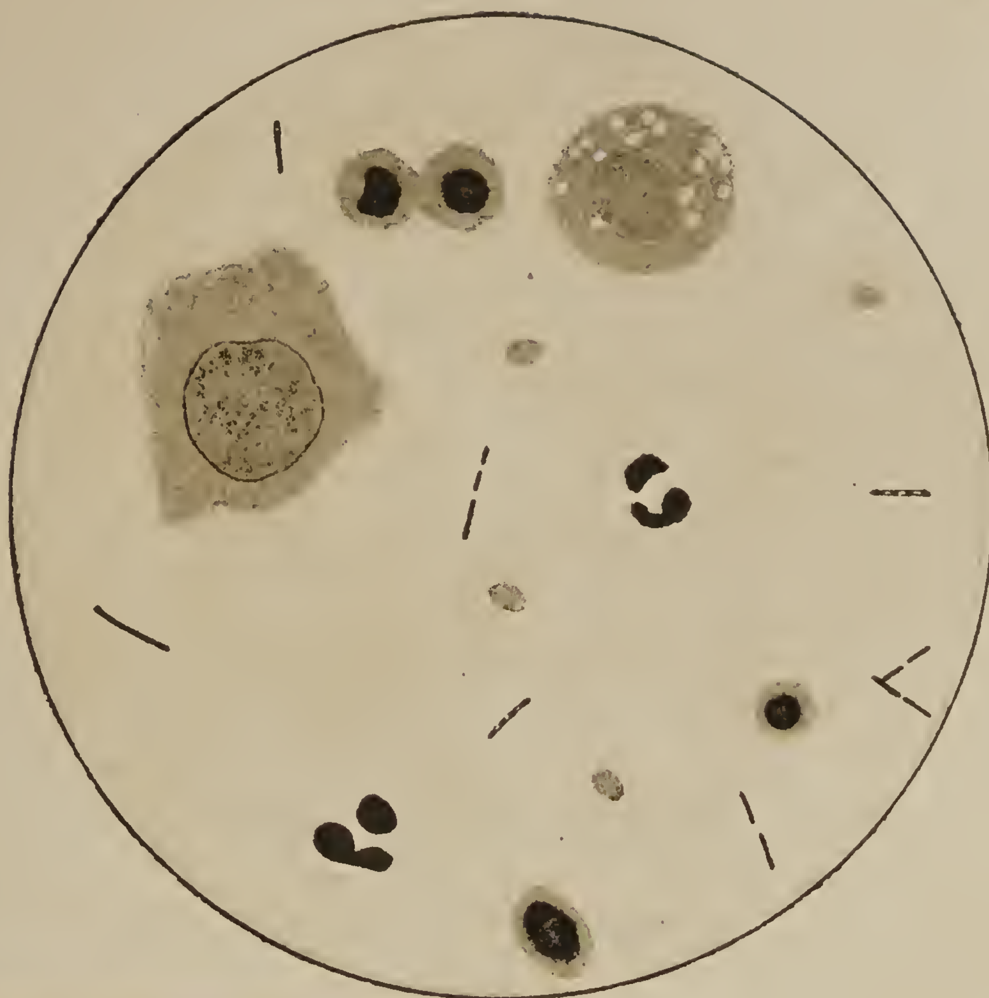


Fig. 1.



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4.

T. XXX. — 1916. Mars. — N° 3.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie.
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 3

30e ANNÉE MARS 1916 N° 3

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E Metchnikoff.

LOCAL SPECIFIC THERAPY OF INFECTIONS

by SIMON FLEXNER.

(From the Laboratories of The Rockefeller Institute for Medical Research, New-York.)

Medicine possesses no universal remedies for the infectious diseases, and the more deeply biological phenomena are studied, the more certain become the indications that no such class of remedies will be discovered. This probability follows from the fact of the specificity of cells — those composing on the one hand the structures of the host, or macroörganism, and those comprising on the other the invading parasite or microörganism.

Pathological processes are essentially local in character. Pathogenic microörganism do not attack and injure all parts of the body equally and indifferently. Indeed, each microbe exhibits preferences as regards location in which to settle and to multiply. When, as often happens, the entire body responds to the pathological process, it is by reason of general effects of far smaller degree than exist at the local seat of disease. It is at one time the blood, at another the lymphatic glands, and at still another the central nervous organs, the kidneys, the intestine, or other part that suffer most. Hence the problem

confronting the therapeutist is not alone to search for curative agents but also to devise the means of bringing such remedies into intimate relation with the local lesions of disease [1].

Experience has shown that the causes of microbic disease are most readily and certainly brought under the influence of healing agencies when the parasites are widely disseminated throughout the blood. The operation of quinine against the malarial parasites is such an example; while mercury and salvarsan are most effective against syphilitic infection at that period in which *Treponema pallidum* is widely distributed throughout the body. Indeed, once the spirochaetae have become aggregated into local lesions or in situations that are more remote from the circulating blood, they are destroyed with far less certainty. In other words, curative agents depend for their action on accessibility to the microbic causes of disease. Even when the severe effects are caused not by the microörganisms themselves but by their toxic products, the same rule holds true. Diphtheria toxin is readily neutralized by diphtheria antitoxin, because it exhibits low affinity for organic cells that withdraw it from the blood and away from the sphere of action of the antitoxin; while tetanus toxin, being quickly and firmly bound by nerve cells, is far more difficult to bring under the neutralizing effects of tetanus antitoxin.

The process of destruction of microbes takes place chiefly within the tissue spaces and lymph cavities which are cut off from direct communication with the blood. Hence all the defensive and curative principles that are contained within the blood must leave that fluid in order to reach the true seat of disease. This fact is equally true of the phagocytes and of dissolved immunity principles or drugs. The phagocytes escape from the blood into the local lesion through emigration, and the dissolved principles by transudation, two processes which are accelerated as the result of inflammation that occurs about the lesion. But both are nevertheless limited by conditions which on the one hand determine the local quality of the lymph and on the other the supply and extent of emigration of the phagocytes.

The lymph is poorer in protein constituents than is the plasma of the blood and it is not identical in composition in the

lymph spaces and the several serous cavities. The lymph surrounding the spermatic cord may approach in protein content that of the blood; while the lymph transudate in the pleura may show in a thousand parts 20 of protein, in the peritoneum 11, and in the cerebrospinal membranes 6. Since a close relationship exists between the protein and antibody content of the several lymphatic fluids, it follows that the chemical composition of the lymph may well become a deciding factor in the issue of infection. Moreover, drugs which have been introduced into the blood pass also unequally into the lymph.

Parasites which therefore have become localized in regions inaccessible or not readily accessible to the defensive or curative principles contained within the blood are thus insured a potential advantage against the host; and this advantage is strengthened by the circumstance that, as they multiply within a confined area to which the lymph has not ready access, the immunity principles originally present are exhausted.

Still other factors play a part in determining the issue of infection. It is not sufficient that curative principles shall be possessed since it is also necessary that they be able to act upon the microbic causes of disease in such a degree of concentration as to insure maximal effect. We already know that for trypanosomal, meningococcal and streptococcal infections, the higher the concentration is of the specific immune sera about the parasites, the greater the assurance of their destruction [2].

Moreover, variation and mutation occur among microörganisms which operate to determine their susceptibilities to injurious agencies, whether immunity bodies or drugs. Even phagocytosis is affected by variations in virulence among bacteria [3]. This factor has come to be regarded as highly important in deciding the issue of infection. In how far it can be set aside by the more direct local attack upon disease remains still to be determined; but the oportunity which the method affords of uniting immune sera and curative drugs in their action upon the parasites offers in this respect manifest advantages.

It is desirable to recall that in the course of their curative action, specific drugs are assisted in the destruction of parasites

by antibodies; hence an artificial combination of specific drug and specific antibody should offer definite therapeutic advantages. It is, moreover, probable that an antibody or drug will operate with greater affect against an already injured tha nagainst a normal parasite; while mutation or variation among the parasite is less readily achieved in several directions than in one direction.

In certain departements of medicine local therapy has long been employed. This fact is especially true as regards the treatment of diseases and wounds of the exposed surfaces of the skin and of such of the mucous membranes as are readily accessible from without. In a somewhat different class belong devices for causing local hyperemia, such as heat and pressure, which depend for their value upon the local accumulation of the defensive principles contained within the blood. But local specific therapy in the sense here employed relates to the purposeful treatment of infectious processes whether within the body or merely on its surface by means of specific antibodies or drugs especially fashioned for the purpose.

The central nervous system.

Local specific therapy is especially applicable to the treatment of infections in the region of the central nervous organa, namely, the meninges and the nervous organs proper. Thus far the greatest advance has been made in the treatment of infections of the meninges, among which that infection caused by the meningococcus termed epidemic cerebrospinal meningitis has received the greatest attention.

Meningococcal Meningitis. — A long series of observations indicate that the injection of an antimeningococcal serum into the subarachnoid space reduces the mortality, the period of illness, and the number of sequale occurring in epidemic meningitis [4]. At first regarded as identical, it now appears that more than one strain of *meningococci*, antigenetically considered, occurs in nature. Possibly dissimilar and resistant or fast strains may arise also artificially under the influence of antibodies contained within the meninges. However this may be, an important variant from the common strain of *menin-*

gococcus is the *parameningococcus* of Dopter which causes a certain number of cases of epidemic meningitis. Dopter has not only recognized this variant, but he has succeeded in preparing a specific antiserum for the treatment of cases of infection with the *parameningococcus* [5]. Through the kindness of Dr. Dopter The Rockefeller Institute has been supplied with two cultures of the *parameningococcus* which have been studied as regards their specific properties by Dr. Wollstein [6]. She has confirmed the observations of Dopter and has found also that the *parameningoccocus* can be made to set up a fatal infection of the meninges in rhesus monkeys which is preventable by a parameningococcic serum, but not by an antiserum prepared from the usual strain of *meningococcus*.

The antimeningitis serum acts favorably only when it can be brought into contact with the seat of infection in the meninges. Hence when inflammatory obstruction exists at the base of the brain, preventing the serum from passing from the spinal into the cerebral meninges and ventricles, infection in the latter remains unaffected by the intraspinous injections. To overcome this obstacle indirect intraventricular injection of the serum is used; and it has succeeded not only in young children but also in the adult, in whom a trephine opening of the skull is required for the injections [7].

Influenzal and Pneumococcic Meningitis. — The injection into the spinal meninges of suitably virulent cultures of influenza *bacilli* and of *pneumococci*, respectively, set up acute inflammations which tend to terminate fatally. The influenzal meningitis, so-called, can be prevented or cured by the local injection of an anti-influenzal serum prepared in the horse [8]. To overcome the pneumococcal meningitis, something more than the employment of an anti-pneumococcal serum is required. In the first place exact relationship must exist between the type of infecting *pneumococcus* and that of the specific antiserum employed; and in the next place the addition of a lytic substance seems also to be necessary. For the latter purpose sodium oleate has been successfully employed along with the antipneumococcal serum in controlling the experimental inflammation [9]. Optochin (ethylhydrocuprein) has been employed in one instance in the local treatment of

pneumococcal meningitis apparently with a successful result [10].

Tabes Dorsalis and Paresis. — The discovery by Noguchi of *Treponema pallidum* in the brain in paresis and in the spinal cord in tabes has opened up these affections to specific therapy. Even before this discovery Swift and Ellis employed on general anatomical grounds a method of local specific therapy in the treatment of tabes dorsalis [11]. The method consists in the subarachnoidal injection of salvarsanized serum, obtained from the blood of patients following an intravenous injection of salvarsan. This serum, suitably diluted, is introduced into the spinal meninges. The results obtained have been highly encouraging and a similar procedure is now being tested in the local treatment of paresis. It would therefore seem desirable, on theoretical grounds, to employ the local method, along with general specific medication, in the treatment of sleeping sickness.

Tuberculous Meningitis. — Tuberculosis of the serous membranes can be readily induced in animale by injecting an emulsion of tubercle *bacilli* into the serous cavities. In this manner tuberculosis of the pleura and of the meninges has been produced in the dog and the monkey. When left untreated the lesions progress and terminate the life of the animal; but their progress has been retarded by injecting living leucocytes locally into the site of the tuberculous lesions. By means of repeated subdural injections of dog leucocytes, tuberculous meningitis in the dog has been either arrested or healed; and experimental tuberculosis of the meninges in the monkey has been favorably affected by local injections of rabbit's leucocytes [12].

Other applications.

It is obvious that local specific therapy in the manner here indicated is applicable to other parts of the body than the central nervous system. The antimeningococcal serum has indeed been successfully employed in the local treatment of metastatic meningococcal arthritis. Syphilitic keratitis in the rabbit has been healed by local instillations of neosalvarsan [14], and *ulcus serpens* by the local use on the one

hand of antipneumococcal serum [15] and on the other of optochin [16]. Experimental streptococcal infections of the uterus in rabbits have been controlled by the local application of antistreptococcal serum [17]. A mere beginning has been made in this field of investigation ; with growth of knowledge of the specific qualities of microörganisms, as determined first by species and next by variants or mutants, and ever finer approximation between the pathogenic microbe and the specific antidote designed to overcome its pathogenic effect will be sought. Undoubtedly antisera are capable of closer adaptation in this respect ; but an outlook even more promising is afforded by experimental chemo-therapy since specific drugs already appear to be less narrowly limited in their activities by the finer antigenic distinctions occurring among the variants of a single microbic species.

It is profoundly gratifying that immunology, to which subject professor Metchnikoff, whom we today honor, contributed the fundamental and fertile doctrine of phagocytosis, should hold out such high hopes of benefit to mankind.

BIBLIOGRAPHY

[1] Flexner : The Local Specific Therapy of Infections, *Jour. Am. Med. Assn.*, 1913, LXI, 447, 1872.

[2] Flexner : A Serum-Therapy for Experimental Infection with Diplococcus Intracellularis, *Jour. Exper. Med.*, 1907, IX, 168. Flexner and Jobling : An Analysis of Four Hundred Cases of Epidemic Cerebrospinal Meningitis Treated with the Antimeningitis Serum, *Jour. Exper. Med.*, 1908, X, 690. Ungermann and Kandiba : Ueber quantitative Verhältnisse der Antikörperwirkung, *Arb. a. d. k. Gesundheitsamte*, 1912, XL, 24.

[3] Mennes : Das Antipneumokokken-Serum und der Mechanismus der Immunität des Kaninchens gegen den Pneumococcus, *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, XXV, 413. Marchand : Étude sur la phagocytose des streptocoques atténués et virulents, *Arch. de Méd. Expér.*, 1898, X, 253. Rosenow : The role of phagocytosis in the pneumococcidal action of pneumonic blood, *Jour. Inf. Dis.*, 1906, III, 683 ; Human pneumococcal opsonin and the antiopsonic substance in virulent pneumococci, *Jour. Inf. Dis.*, 1907, IV, 285.

[4] Flexner : The Results of the Serum Treatment in Thirteen Hundred Cases of Epidemic Meningitis, *Jour. Exper. Med.*, 1913, XVII, 553. Levy : Erfahrungen mit Koll-Wassermannschem Meningokokkenheilserum bei 23 Genickstarrekranken, *Klin. Jahrb.*, 1908, XVIII, 317 ; Serumbehandlung der übertragbaren Genickstarre, *Klin. Jahrb.*, 1911, XXV, 121. Dopter : La sérothérapie antiméningococcique dans 196 cas de meningite cérébro-spinale épidémique, *Bull. et Mém. de Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1909, Sér. 3, XXVIII, 39.

[5] Dopter : Étude de quelques germes isolés du rhino-pharynx voisins du

méningocoque (paraméningocoques), *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1909, LXVIII, 74; Méningites cérébro-spinales à paraméningocoques, *Bull. et Mém. de Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1911, XXXI, 590.

[6] Wollstein : Unpublished studies.

[7] Fischer : Cerebrospinal Meningitis in an Infant, Two Months Old, *New York Med. Jour.*, 1910, XCI, 625. Levy : Die Behandlung der epidemischen Genickstarre durch Seruminjectionen in die Seitenventrikel. Bericht über einen geheilten Fall, *Arch. f. Kinderheilk.*, 1912, LIX, 72. Bouché : Un nouveau cas de méningite cérébrospinale à méningocoque de Weichselbaum: sérothérapie; guérison, *Jour. de méd. de Bruxelles*, 1912, XVII, 21. Martin : Cerebro-Spinal Meningitis with report of a case treated by introducing serum into the lateral ventricle, *Southern Med. Jour.*, 1914, VII, 101.

[8] Wollstein : Influenza Bacillus in Inflammations of the Respiratory Tract in Infants, *Jour. Exper. Med.*, 1906, VIII, 681; Serum Treatment of Influenzal Meningitis, *ibid.*, 1911, XIV, 73; Influenzal Meningitis and Its Experimental Production, *Am. Jour. Dis. Child.*, January, 1911, p. 42.

[9] Lamar : Chemo-Immunological Studies on Localized Infections. First Paper : Action on the Pneumococcus and its Experimental Infections of Combined Sodium Oleate and Antipneumococcus Serum, *Jour. Exper. Med.*, 1911, XIII, 1; Fourth Paper : Experimental Pneumococcic Meningitis and Its Specific Treatment, *Jour. Exper. Med.*. 1912, XVI, 581.

[10] Wolf und Lehmann : Ueber einen durch intralumbale und intraventrikuläre Aethylhydrocrupreïn-Injektionen geheilten Fall von Pneumokokkenmeningitis, *Deutsche Med. Wochenschr.*, 1913, XXXIX, 2509.

[11] Swift and Ellis : The Direct Treatment of Syphilitic Diseases of the Central Nervous System, *New York Med. Jour.*, 1912, XCVI, 53; Die kombinierte Lokal- und Allgemeinbehandlung der Syphilis des Zentralnervensystems, *München. med. Wochenschr.*, 1913, LX, 1977, 2054.

[12] Opie : The Effect of Injected Leucocytes on the Development of a Tuberculous Lesion, *Jour. Exper. Med.*, 1908, X, 419. Manwaring : The Effects of Subdural Injections of Leucocytes on the Development and Course of Experimental Tuberculous Meningitis, *Jour. Exper. Med*,, 1912, XV, 1; The Effects of Subdural Injections of Leucocytes on the Development and Course of Experimental Tuberculous Meningitis. Second Paper, *Jour. Exper. Med.*, 1913, XVII, 1.

[13] Ladd : Serum Treatment of Epidemic Cerebrospinal Meningitis, *Jour. Am. Med. Assn*, 17 oct. 1908, p. 1315. Taylor : The Serum Therapy of Meningococcus Arthritis, *Cleveland Med. Jour.*, 1913, XII, 348.

[14] Castelli : Ueber Neosalvarsan : Lokalbehandlung der generalisierten Syphilis und generalisiertem Framboesia bei Kaninchen, *Deutsche med, Wochenschr.*, 1912. XXXVIII, 1487.

[15] Römer : Experimentale Grundlagen für klinische Versuche einer Serumtherapie des Ulcus cornea serpens nach Untersuchungen über Pneumokokkenimmunität, *Arch. f. Ophth.*, 1902. LIV, 99.

[16] Morenroth und Bumke : Spezifische Desinfektion und Chemotherapie bakterieller Infektionen, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1914, XL, 538.

[17] Spiess : Die Anwendung von Antistreptokokkenserum (Höchst) per Os und lokal in Pulverforn, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1912, XXXVIII, 207.

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DES ÉCHANGES ENTRE LES RACINES ET LE SOL. ÉCHANGES ENTRE LES DIVERS TISSUS DE LA PLANTE

par P. MAZÉ.

DEUXIÈME PARTIE (1)

VI

TOXICITÉ DE L'EAU DISTILLÉE ET DES SOLUTIONS INCOMPLÈTES. ABSORPTION DES CORPS DISSOUS. PHÉNOMÈNE DE LA PLASMOLYSE.

Les résultats de l'expérience synthétique que je viens de décrire méritent qu'on s'y arrête.

L'eau distillée ou une solution minérale incomplète introduites directement dans la circulation diminuent beaucoup l'activité du maïs.

Les deux liquides agissent sur la plante comme de véritables toxiques, bien qu'ils n'entrent pas en contact immédiat avec les cellules vivantes. Le tissu conducteur est, en effet, un tissu mort ; et au cours du trajet qu'elles ont accompli pour parvenir aux différents points de la plante, l'eau distillée et la solution nutritive se sont enrichies de substances minérales qui ont atténué leur influence nocive.

L'action toxique est donc vraisemblablement plus marquée encore, lorsque la cellule vivante est plongée brusquement dans l'eau distillée ou dans un milieu qui ne constitue pas pour elle une liqueur nutritive complète et bien équilibrée.

Une intoxication produite par une cause de cet ordre ne peut pas s'observer chez un végétal entier puisque les racines règlent l'admission de l'eau distillée ou d'une solution incom-

(1) Voir pour la première partie ces *Annales*, t. XXIX, 1915, p. 601.

plète de manière à former, avec les réserves minérales disponibles dans la plante, une sève de composition normale.

Mais elle se produit toutes les fois que l'on étudie au microscope une préparation de tissu vivant immergée dans l'eau ou dans une solution minérale.

Les renseignements fournis par le microscope sur les mouvements du protoplasme ou sur les échanges entre la cellule et le milieu ambiant sont donc sujets à caution.

Il en est de même de ceux que l'analyse chimique fournit dans des conditions semblables.

On a constaté ainsi que certains corps ne pénètrent pas dans le sac protoplasmique et que d'autres sont absorbés.

Il est assez difficile d'interpréter tous les cas particuliers.

En dehors du fait général que l'eau distillée ou une solution renfermant une ou plusieurs substances minérales sont toxiques pour la cellule, bien d'autres facteurs interviennent dans l'infiltration intraprotoplasmique.

C'est d'abord la propriété de la cellule d'accumuler quelques substances alimentaires comme des nitrates et des chlorures, des sels de potassium et de sodium, quelques substances organiques telles que les sucres, les polyalcools, les acides organiques, etc... Dans cet ordre de faits, chaque espèce végétale a d'ailleurs ses tolérances particulières.

C'est ensuite l'action antiseptique des corps considérés. Une cellule anesthésiée ou une cellule tuée n'opposent à la pénétration des substances dissoutes qu'une résistance affaiblie ou nulle, et, le plus souvent, rien ne permet de saisir le moment précis où une cellule modifie ses propriétés ou cesse de réagir.

Les phénomènes d'attraction moléculaire (action de teinture) favorisent la pénétration progressive de quelques composés ; les matières colorantes donnent une image fidèle de ce mode d'infiltration.

On a constaté enfin que les corps dissous peuvent traverser la paroi externe du sac protoplasmique s'ils sont également solubles dans la matière qui forme cette paroi ; ce mode d'absorption constituerait un procédé général s'il se réalisait dans le cas des parois imbibées d'eau ; c'est d'ailleurs de cette façon qu'on interprétait jusqu'ici le mécanisme de l'absorption chez les racines ; mais comme il nous ramène directement aux

actions osmotiques dont j'ai démontré la non existence, le procédé ne peut être envisagé que comme une exception vraisemblablement peu fréquente.

L'absorption des gaz de l'atmosphère ou l'émission des gaz dissous se font cependant suivant ce procédé ; l'oxygène de l'air traverse les parois cellulaires par voie de dissolution et de diffusion ; mais lorsqu'il est fixé sur l'hémoglobine ou simplement dissous dans le plasma ou dans la sève, il obéit comme tous les corps dissous à la loi générale des échanges, qui ne se manifeste dans toute sa généralité que lorsque la cellule vivante plonge dans un milieu nutritif complet de concentration déterminée.

En dehors de cette loi, on ne peut donc observer que des exceptions dont l'étude ne fournit que des résultats particuliers difficiles à interpréter dans l'état actuel de nos connaissances, puisque nous ignorons les influences réciproques du protoplasme et des corps dissous considérés isolément.

On constate pourtant qu'une cellule se plasmolyse invariablement lorsqu'elle est immergée dans une solution de concentration convenable ; on admet que le phénomène est dû à la déshydratation du sac protoplasmique sous l'influence d'une tension osmotique plus grande que celle du suc cellulaire ; mais, comme cette interprétation repose sur une hypothèse controuvée, on doit y renoncer ; la plasmolyse représente simplement le premier stade apparent d'un phénomène très général, la coagulation.

VII

Circulation de la sève brute.

Pression de sève chez les végétaux.

L'éclosion des bourgeons est précédée chez les végétaux à feuilles caduques d'une accumulation de sève dans la plante. Il en résulte une pression interne qui a été attribuée à une « poussée des racines » s'exerçant à la faveur des actions osmotiques qui interviennent dans la région des poils absorbants.

L'existence d'une poussée des racines ne saurait être prise en considération, maintenant qu'on est fixé sur la nature des facteurs qui président au phénomène de l'absorption.

Il convient donc de donner une explication rationnelle de la pression interne que l'on constate chez les végétaux à feuilles caduques avant la reprise de la végétation. Je l'appellerai, pour abréger, pression de sève.

Ce phénomène a fait l'objet d'un grand nombre d'observations dont les plus anciennes remontent à plus d'un siècle.

Elles nous apprennent que la pression est surtout sensible dans la tige, où elle varie d'ailleurs d'un point à un autre, le maximum se trouvant vraisemblablement vers la base. Elle se manifeste peu de temps après la chute des feuilles ; elle devient nulle pendant les grands froids pour réapparaître dès que la température se radoucit. On peut enregistrer ainsi un certain nombre d'oscillations qui suivent les variations des conditions atmosphériques.

Le maximum s'observe pendant les jours qui précèdent l'éclosion des bourgeons.

Pour mesurer cette pression on a utilisé de préférence une colonne mercurielle à laquelle elle se transmet par l'intermédiaire d'une ampoule pleine d'eau, en relation elle-même avec l'intérieur de la tige au moyen d'une tubulure solidement adaptée à un trou de tarière.

Quand la colonne mercurielle se fixe à un niveau invariable, après une ascension plus ou moins accidentée, on admet que la pression est maximum.

Une surcharge de mercure provoque alors la pénétration, dans les faisceaux vasculaires de la tige, d'un volume d'eau égal à celui du mercure ajouté, et la colonne revient à son niveau invariable.

On a enregistré ainsi des pressions qui varient de quelques centimètres de mercure à plus de 2 atmosphères (192 centimètres chez le *Betula lenta*, Clark).

On observe plus simplement l'existence de la pression de sève dans les végétaux par l'écoulement de liquide qui suit le sectionnement d'une tige ou d'une pousse avant l'éclosion des bourgeons.

Quand les feuilles sont formées, la pression de sève disparaît.

C'est une dépression que l'on observe, surtout à la lumière solaire. La *chlorovaporisation* est quelquefois si active que les racines ne parviennent pas à fournir à la plante l'eau qui se déverse dans l'air à l'état de vapeur ; les feuilles perdent leur turgescence (1). Mais à l'obscurité la plante récupère rapidement son eau d'imbibition et une certaine pression s'y fait encore sentir ; elle se manifeste par un écoulement d'eau qui se fait surtout par les pores aquifères.

Si on sectionne au ras du sol une tige en pleine végétation, on constate encore que la section laisse suinter de l'eau pendant plusieurs jours. La force qui refoule l'eau vers les extrémités de la plante persiste donc pendant la belle saison et, suivant toutes les apparences, elle a son siège dans les racines ; mais ces apparences sont trompeuses, comme on va le voir.

La circulation de la sève a pour cause initiale le travail chimique de la plante.

On se rappelle que le volume d'eau ou, plus exactement, le volume de la solution physiologique mis en œuvre par la plante est réglé par la somme des transformations chimiques que la plante accomplit.

Tout mouvement de sève se présente donc comme une conséquence immédiate de l'activité végétale, et comme cette activité est rarement nulle, les échanges avec le sol persistent même pendant l'hiver ; ils ne sont que ralentis et ils ne s'arrêtent complètement que lorsque le thermomètre se maintient assez longtemps au-dessous de 0°.

Considérées de ce point de vue, les diverses manifestations par lesquelles se traduisent les mouvements de la sève au cours des saisons peuvent s'expliquer très simplement.

Examinons d'abord les causes de la pression de sève :

Les tissus vivants de la plante continuent de respirer après la chute des feuilles ; et, lorsque la température est favorable, ce qui arrive fréquemment, les cellules des divers méristèmes se multiplient visiblement. Il en résulte une absorption de

(1) Voir la première partie du Mémoire, ces *Annales*, t. XXIX, 1915, p. 619.

solution physiologique, dont l'effet est de mettre à la disposition des cellules vivantes les éléments minéraux nécessaires à l'entretien de leur activité. Comme la plante est privée de feuilles, la sève épuisée ne peut être éliminée à l'état de vapeur à mesure qu'elle afflue; elle s'accumule dans les tissus conducteurs et y produit une pression facile à mettre en évidence.

S'il survient une période de jours froids, l'activité de la plante s'arrête complètement; la sève, n'étant plus sollicitée, cesse d'affluer dans les diverses parties du végétal. Mais l'évaporation continue son œuvre; une partie de l'eau emmagasinée se déverse dans l'atmosphère à l'état de vapeur; il s'ensuit que la pression de sève baisse; elle peut même devenir nulle si les basses températures persistent assez longtemps. Les variations de pression constituent donc la règle pendant la mauvaise saison; on ne voit pas bien, par contre, la raison de l'existence d'un maximum.

L'activité de la plante va croissant jusqu'à l'éclosion des bourgeons; la collection de la sève épuisée suit donc une marche parallèle, puisque l'évaporation ne peut pas la contrebalancer; la pression qui en résulte devrait présenter aussi un accroissement correspondant.

Mais la plante renferme une atmosphère interne que la sève peut déplacer dès que la pression devient suffisante. A partir de ce moment, tout nouvel afflux de liquide provoque l'expulsion d'un égal volume de gaz par les lenticelles; la pression demeure donc constante. Si on cherche à l'accroître au moyen de l'artifice que j'ai rappelé plus haut, p. 120, l'eau pénètre dans la tige; mais elle ne s'écoule pas par les racines comme on l'a supposé; elle prend la place du gaz qu'elle expulse.

On voit donc que le maximum de pression est déterminé par la résistance que l'atmosphère interne oppose à l'accumulation de la sève épuisée. Cette résistance étant naturellement variable d'une espèce à l'autre et même d'un individu à l'autre, la limite maxima de la pression de sève l'est aussi.

L'écoulement de liquide par les sections de tiges récemment coupées, par les blessures, par les trous de tarière, etc..., doit être attribué à la même cause que la pression de sève.

La pression de sève ne se transmet pas jusqu'aux extrémités

des racines. Les auteurs ont constaté du reste qu'elle varie dans la tige et les grosses racines en des points assez rapprochés. Elle ne se propage donc pas facilement à travers les tissus de la plante ; la résistance à l'écoulement peut être vérifiée directement. La filtration sous pression à travers la porcelaine dégourdie en donne une idée assez exacte.

Une pression d'une atmosphère s'exerçant sur un liquide qui remplit une bougie Chamberland est équilibrée par la résistance à l'écoulement due au frottement du liquide contre les parois des espaces capillaires. La vitesse d'écoulement à la sortie des pores extérieurs est le plus souvent négligeable.

La sève prévernale accumulée dans un érable s'écoule goutte à goutte par les parois d'un trou de tarière, bien que la pression puisse être assez forte à peu de distance du trou.

En résumé, on peut conclure que l'activité chimique de la plante est la cause première des mouvements de la sève même pendant le repos de la végétation ; mais, comme l'appareil d'évaporation constitué par les feuilles n'existe pas, la sève épuisée n'est pas toujours éliminée à mesure qu'elle afflue ; elle reste dans les tissus conducteurs où son accumulation produit nécessairement une pression mécanique plus ou moins élevée.

Les forces qui assurent la circulation de la sève.

Si le travail chimique de la plante règle l'emploi de la sève et en provoque l'appel, il n'en assure pas la circulation.

Ce rôle est dévolu à une force qu'on a considérée jusqu'ici comme la résultante de la pression osmotique, de la pression atmosphérique et de l'imbibition.

Nous savons que le rôle de l'osmose est controuvé ; il s'agit donc de mettre en évidence les parts respectives des deux autres facteurs.

Il conviendrait, suivant toutes les apparences, de leur adjoindre l'évaporation et surtout la transpiration chez les organes verts insolés.

En réalité, la vaporisation n'agit pas directement ; elle prive la cellule d'une partie de son eau sans influencer les facteurs qui procèdent à son remplacement.

Liée par une relation de cause à effet aux transformations chimiques qui s'accomplissent dans la plante, la vaporisation reste donc comme ces dernières sans influence immédiate sur le transport de la sève.

L'attention doit donc se porter sur les deux facteurs réellement agissants : la pression atmosphérique et l'imbibition.

Rôle de la pression atmosphérique.

La pression atmosphérique n'intervient pas dans le phénomène de l'absorption. Le tissu conducteur d'une plante ne peut pas être assimilé à un faisceau de tubes capillaires ouverts aux deux extrémités. Les vaisseaux du bois sont fermés à leur partie inférieure par des sacs protoplasmiques dont nous connaissons le fonctionnement. On a vu que le sac protoplasmique n'obéit pas aux lois de l'osmose; il ne peut pas se prêter non plus à une poussée exercée par la pression atmosphérique dont le résultat serait de faire pénétrer dans la plante la solution ambiante sans aucune modification de composition. J'ai réalisé précisément cette condition expérimentalement lorsque j'ai coupé les racines de deux plants de maïs, on a pu en constater les résultats (1re partie du Mémoire, p. 628).

La pression atmosphérique se fait sentir dans la plante par l'intermédiaire des gaz qui remplissent les méats et les lacunes, parce que ces espaces communiquent avec l'air par les lenticelles ou par le liège crevassé des écorces caduques. Les gaz atmosphériques peuvent pénétrer aussi par les membranes ou les cloisons imbibées d'eau et se dégager dans les espaces lacunaires où ils restent par conséquent en communication médiate avec l'air. La pression à l'intérieur d'une plante est donc, en principe, égale à la pression atmosphérique. La circulation de la sève se trouve ainsi assurée dans un arbre quelle qu'en soit la hauteur.

Cependant, la pression ne se transmet pas instantanément de la périphérie au centre. Les espaces capillaires et les cloisons imbibées d'eau présentent une résistance assez grande à la circulation de l'air.

Une dépression interne reste possible chaque fois que la transpiration l'emporte sur l'absorption, et le maximum de

cette dépression est atteint lorsqu'elle équilibre la résistance que rencontre la circulation de l'air à travers l'écorce (1).

Rôle de l'imbibition.

L'imbibition apparaît maintenant comme la principale force capable d'assurer la circulation de la sève. On sait que l'imbibition est la propriété que possèdent les corps poreux d'absorber les liquides qui ne les dissolvent ou ne les coagulent pas.

Cette propriété est commune aux substances minérales et organiques. Chez les premières elle est due exclusivement aux forces capillaires. Chez les secondes elle se complique d'une augmentation de volume, produite vraisemblablement par l'écartement des molécules ou des micelles sous l'influence de la pénétration du liquide.

La force avec laquelle une substance poreuse absorbe les liquides est quelquefois énorme. Jamin a montré que la force de pénétration de l'eau exerce sur l'air qui remplit les espaces capillaires, une pression de plusieurs atmosphères. On a d'ailleurs utilisé de tout temps la force engendrée par l'imbibition du bois pour produire des effets mécaniques très puissants.

Une force de cette nature peut prendre naissance au sein des tissus conducteurs d'un arbre, puisque les vaisseaux du bois sont privés de vie. Il suffit pour cela que l'eau s'y accumule. C'est ce qui se produit pendant la période de repos de la végétation (V. p. 122).

L'imbibition est aussi une propriété de la matière vivante. Mais le double courant d'entrée et de sortie dont la cellule est le siège au cours de la vie active est réglé, on le sait, par les mouvements protoplasmiques.

L'imbibition ne peut donc s'exercer au sein de la matière vivante qu'au moment où celle-ci récupère son eau de consti-

(1) On sait que les diminutions de pression interne se produisent exclusivement pendant les périodes de plus grande activité chimique de la plante. Une partie de l'air dissous dans la sève se dégage à la faveur de cette dépression et la lumière des vaisseaux est partiellement obstruée par de petites bulles de gaz.

L'entrave qui en résulte pour la circulation de la sève contribue avec la cause que j'ai indiquée dans la première partie de ce Mémoire, p. 612, à provoquer la perte de turgescence des feuilles.

tution. Le gonflement des graines, des tubercules desséchés, des spores, etc. se rattache à cet ordre de phénomènes; mais il est vraisemblable qu'il ne s'agit pas là non plus d'un phénomène d'imbibition pur et simple. Il ne faut pas oublier en effet que les lois physiques applicables à la matière inerte rencontrent, au seuil de la cellule vivante, une propriété du protoplasme, qui en règle et quelquefois en supprime les effets.

La conclusion qui s'impose donc en dernière analyse est que la circulation de la sève, assurée par des forces physiques, est subordonnée aussi au mouvement protoplasmique (1).

Exposé succinct de la circulation de la sève.

Les facteurs qui interviennent dans la circulation de la sève étant suffisamment connus, il est possible d'exposer brièvement les divers aspects du phénomène.

Considérons la plante aux divers états qu'elle présente au cours des saisons, et voyons d'abord ce qui se passe pendant la période de repos en supposant la température assez basse pour arrêter toute activité chimique.

On sait que dans ces conditions l'absorption est si réduite que la plante ne peut pas récupérer l'eau qu'elle perd par évaporation purement physique. La pression à l'intérieur de la tige est égale à la pression atmosphérique, puisque celle-ci peut s'exercer même dans la profondeur des tissus (V. p. 124).

Lorsque la température devient favorable à l'activité cellulaire, la sève ascendante admise par les poils absorbants est portée par capillarité dans toutes les parties des organes aériens, grâce à la pression atmosphérique. Les tissus vivants empruntent à l'appareil vasculaire la solution physiologique nécessaire à leurs fonctions et y déversent la sève épuisée. Mais, comme les feuilles n'existent pas, l'absorption fournit plus d'eau qu'il ne s'en perd par évaporation. Le tissu conducteur mort s'imbibe fortement et se gonfle. La pression monte et devient supérieure à la pression atmosphérique. L'eau prend la place de l'air

(1) Le rôle du mouvement protoplasmique dans les échanges nutritifs de la cellule n'est pas, je le répète, une notion nouvelle; il a été admis depuis longtemps par les physiologistes, et de Vries en particulier le considérait comme essentiel (*Bot. Zeit.*, 1885, p. 1).

qu'elle dissout en plus grande quantité à mesure que la pression croît; elle tend en même temps à expulser le gaz qui remplit les méats si l'excès de pression est suffisant pour faire équilibre à la résistance que les espaces capillaires de l'écorce opposent à la sortie de l'air. Le maximum de pression de sève correspond à cet état d'équilibre (V. p. 122).

C'est vers cette époque que les feuilles font leur apparition ; la vie active reprend.

A partir de ce moment la circulation de la sève est soumise à deux régimes : le régime diurne et le régime nocturne.

Le premier a pour but de faire face à la dépense due à une transpiration très active résultant d'une activité chimique considérable. Il arrive souvent que la cellule perd plus d'eau qu'elle n'en reçoit; c'est la réserve du tissu conducteur qui fait face au déficit. La raréfaction de l'eau d'imbibition du bois provoque une dépression interne qui peut atteindre plusieurs centimètres de mercure suivant les observations des auteurs. La force avec laquelle les tissus vivants absorbent l'eau est donc supérieure à la force d'imbibition du bois. Quant à la cause réelle de la dépression, elle réside dans le fait que les racines ne peuvent pas fournir à la plante autant d'eau qu'elle en perd par transpiration (V. p. 124).

La dépression qui résulte d'une vaporisation intense s'observe naturellement au milieu de la journée, lorsque le ciel est très pur et la température élevée. Elle est d'ailleurs limitée par l'infiltration de l'air dans le tissu vasculaire par les lenticelles et les méats de l'écorce (V. p. 124).

Après le coucher du soleil la transpiration diminue; chez le maïs elle est inférieure au dixième de la transpiration maxima du jour.

La pression interne se rétablit rapidement et, comme l'activité chimique de la plante exige plus d'eau que les feuilles n'en peuvent émettre par évaporation, un léger excès de pression se fait sentir dans tous les organes de la plante ; la sève épuisée suinte par les pores aquifères, entraînant les substances résiduelles, en même temps que d'autres matières minérales et organiques qui se trouvent en excès dans la sève.

A la faveur de cette pression une autre circulation s'établit dans la plante : c'est celle de la sève élaborée.

VIII

Phototropisme et variations de pression a l'intérieur des plantes vertes.

Les plantes vertes éclairées latéralement s'orientent vers la source lumineuse. Cette faculté de se tourner ou de s'incliner sous l'action de la lumière de façon à recevoir le maximum de radiations est connue sous le nom de Phototropisme.

Le mouvement d'orientation s'accuse d'une manière frappante chez des plantules étiolées placées dans une pièce éclairée simplement par une baie latérale de dimensions restreintes.

L'influence de la lumière n'est pourtant pas immédiate; ce sont les variations de pression produites par la transpiration, à l'intérieur des faisceaux vasculaires, qui provoquent l'inclinaison de la tige.

L'éclairage unilatéral limite la transpiration à la moitié des organes aériens de la plante; il suffit donc que la dépression interne qui résulte de la perte d'eau se localise à son tour aux faisceaux vasculaires intéressés, pour que la plante se penche du côté de la lumière.

C'est cette localisation qu'il faut, par conséquent, établir expérimentalement.

Sa possibilité résulte des observations de H. Jodin (1) et de G. Fron (2).

J'ai eu l'occasion, de mon côté, d'observer, à différentes reprises, des faits qui démontrent l'indépendance relative des faisceaux vasculaires chez les feuilles de maïs. Il s'agit de la production de taches de chlorophylle chez des feuilles atteintes d'une chlorose spéciale (3) que l'exsudat de feuilles normales guérit rapidement.

Une goutte d'exsudat déposée sur le limbe d'une feuille

(1) H. Jodin, Bourgeons et racines adventives. *Bulletin de l'Association française pour l'avancement des sciences*, 1897, p. 515.

(2) G. Fron, Contribution à l'étude de l'alimentation extra-racinaire des arbres fruitiers. *Journal de la Société nationale d'Horticulture de France*, 1909, p. 54.

(3) P. Mazé, Ces *Annales*, t. XXVIII, p. 21 et *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXVII, p. 539.

malade fait apparaître la chlorophylle après un jour d'insolation; la tache verte déborde de 2 à 3 millimètres l'emplacement de la goutte.

Les cellules guéries élaborent à leur tour la substance curative que renferme l'exsudat des plantes normales; elles la cèdent à la sève ascendante qui la distribue sur son parcours aux cellules mitoyennes chez lesquelles la chlorophylle se développe également.

La bande verte se propage ainsi vers l'extrémité de la feuille en conservant une largeur à peu près régulière.

Comme les feuilles chlorotiques ne sont jamais le siège d'un phénomène de sudation, l'excès de substance élaborée n'est pas éliminé; mais, au lieu de se répandre dans le tissu voisin en faisant tache d'huile, elle pénètre avec la sève élaborée dans les tubes criblés, et se dirige vers la base de la feuille. La bande verte progresse donc vers la tige en délimitant la voie suivie par la substance curative.

Ce résultat prouve clairement que les échanges intercellulaires dans les directions latérales ou radiales, à travers les faisceaux vasculaires, sont à peu près négligeables, en regard de ceux qui s'accomplissent à la faveur de la circulation directe.

Cette indépendance relative des faisceaux libéro-ligneux favorise, par conséquent, la localisation des courants de sève dans les tiges, les rameaux et les feuilles. Des variations de pression à l'intérieur de la plante, en des points même voisins, peuvent s'établir ainsi à la faveur de certaines conditions accidentelles comme l'éclairage unilatéral.

L'inégalité de pression sur les deux faces de la tige délimitées par ce mode d'éclairage provoque une incurvation dont la flèche se trouve du côté où la pression est le plus faible, c'est-à-dire du côté éclairé.

La dépression se fait d'abord sentir vers le sommet de la tige parce que c'est dans cette région que l'activité chimique est la plus grande et la chlorophylle la plus abondante, du moins chez les plantes étiolées. Elle se transmet rapidement de haut en bas à mesure que la dépression se propage par perte d'eau le long des faisceaux vasculaires qui irriguent la face éclairée.

Le phototropisme des végétaux supérieurs se rattache donc

directement à la circulation de la sève et c'est pour cette raison que je me suis permis de l'examiner à cette place.

IX

Circulation de la sève élaborée.

La sève élaborée circule vraisemblablement le jour comme la nuit dans les vaisseaux libériens; mais il est facile de montrer que son transport devient plus actif à l'obscurité qu'à la lumière.

On sait que, pendant la vie active de la plante, les vaisseaux ligneux servent au transport de la solution physiologique empruntée au sol, les vaisseaux libériens étant affectés à la circulation de la sève élaborée.

Cette division du travail ne s'observe pas chez les plantules qui vivent aux dépens des réserves de la graine; elle n'existe pas davantage chez les plantes à feuilles caduques considérées pendant la période de repos de la végétation; non plus que chez les plantes à floraison pluriennale, pendant la mise en œuvre des réserves accumulées en vue de la fructification.

On sait que les vaisseaux du bois forment un tissu mort, tandis que les tubes libériens sont pourvus de protoplasme disposé le long des parois.

La circulation dans les vaisseaux ligneux est donc purement mécanique; elle est subordonnée dans le liber aux propriétés du protoplasme. La sève ascendante peut passer librement par les pores des parois vasculaires; la sève élaborée, canalisée dans une enveloppe protoplasmique, est distribuée dans les tissus vivants, suivant une règle que je vais mettre en évidence.

On conçoit, sans plus ample informé, que les matières organiques élaborées dans les feuilles mettent un certain temps à parvenir aux régions où elles sont assimilées.

L'alimentation des divers tissus vivants de la plante en substances élaborées n'est donc pas continue.

Le jour, c'est l'élaboration qui prédomine; les sucres, l'amidon et, vraisemblablement, les matières azotées s'accumulent dans les feuilles.

Ils disparaissent en grande partie pendant la nuit et s'acheminent par le liber, vers les différents points de la plante.

Cette périodicité, facile à constater, n'exclut pas nécessairement une circulation libérienne diurne, car on peut admettre que c'est l'excédent des matières élaborées qui stationne temporairement dans les feuilles. La périodicité déduite de l'analyse des réserves des organes assimilateurs ne serait donc qu'apparente.

Supposons qu'elle soit réelle :

Les tissus vivants dépourvus de chlorophylle utilisent pendant le jour les aliments qui leur sont parvenus la nuit. Il en résulte qu'ils sont plus abondamment nourris le matin que le soir. Leur activité chimique est donc plus grande aussi le matin que le soir; l'émission de l'eau, soit à l'état de vapeur, soit à l'état de sudation, étant liée à l'activité chimique de la plante par une relation de cause à effet, suit, par conséquent, la même périodicité.

Or cette dernière conséquence se prête à une détermination expérimentale; il suffit, en effet, de comparer les pertes d'eau produites par l'évaporation et la sudation, le soir après le coucher du soleil, et le matin avant son lever, pour vérifier la justesse de l'hypothèse.

Cette détermination a été faite par divers expérimentateurs; tous ont constaté que la plante évapore et exsude plus d'eau à la fin qu'au commencement de la nuit.

J'ai fait, de mon côté, quelques observations isolées, qui ont donné le même résultat, et, pour m'en tenir à une interprétation immédiate du phénomène, conforme aux données de la chimie physique, j'ai admis que les cellules des feuilles riches en matières élaborées présentent une résistance plus grande à l'évaporation purement physique que les cellules dépourvues de réserves.

Une étude plus approfondie m'a permis de compléter cette interprétation.

J'ai établi, au moyen d'une balance munie d'un appareil enregistreur, le graphique de la marche de la transpiration chez un plant de maïs.

Le cylindre enregistreur actionné par un mouvement d'horlogerie effectue une révolution complète en 24 heures.

Les observations ont porté sur tout un mois de l'été de 1914 ; la plante s'est développée beaucoup pendant la durée des observations; son poids sec, voisin de 10 grammes au début, atteignait à la fin, 30 grammes environ.

Les trois graphiques que je reproduis ici correspondent à des conditions extrêmes de beau et de mauvais temps.

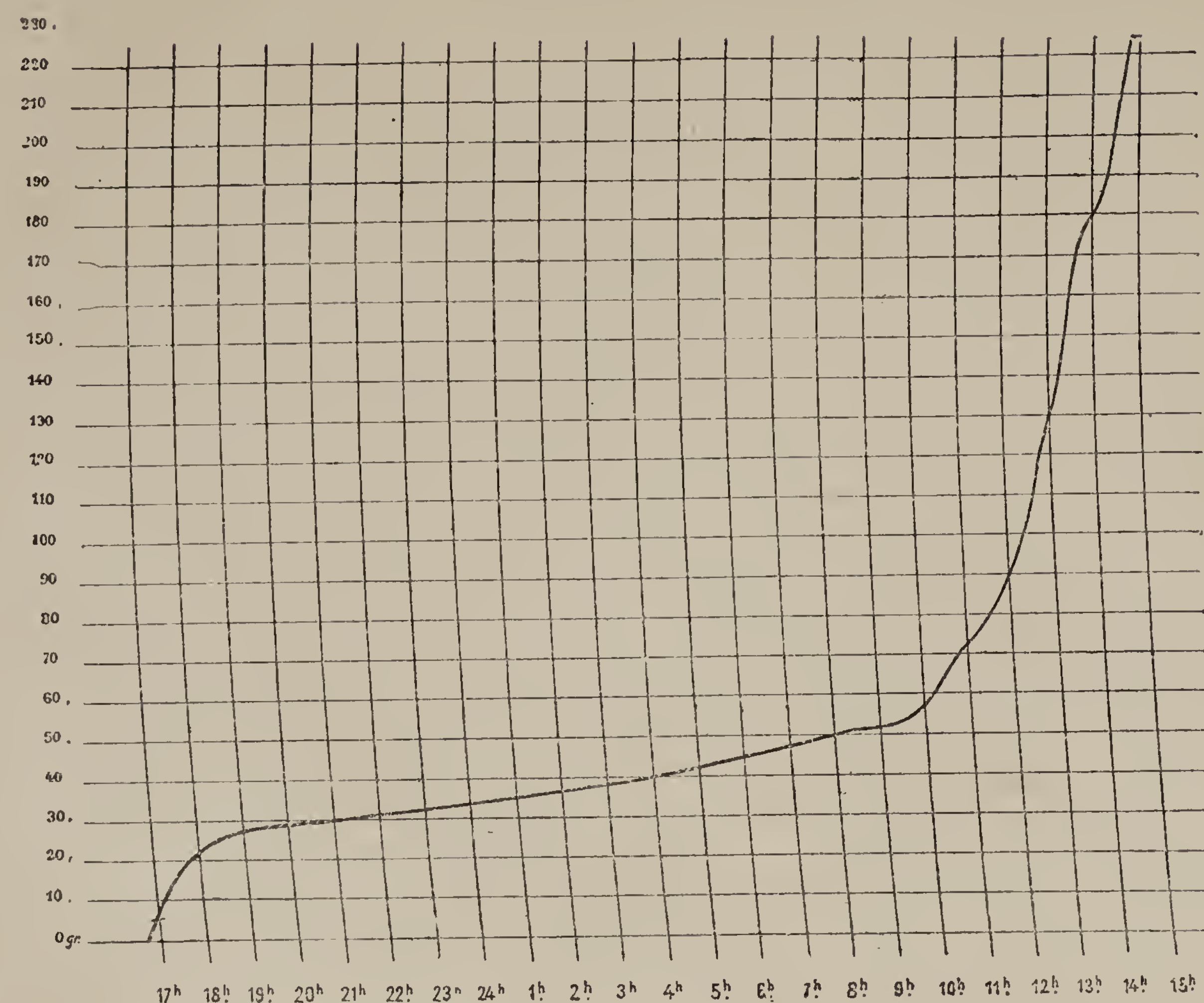
Les poids d'eau évaporés, évalués en grammes, sont portés en ordonnées; le temps, compté en heures, en abscisses.

Les graphiques fig. 1 et 2 se rapportent à deux journées consécutives. Le graphique fig. 2 continue le graphique fig. 1 ; il aurait dû, par conséquent, être placé au-dessus et à droite de la figure 1; on l'a placé simplement à sa droite pour les faire tenir tous les deux dans une page.

Les deux courbes de la figure 3 s'étendent sur deux jours et deux nuits ; la courbe placée au-dessus continue celle qui est au-dessous ; les abscisses correspondantes sont portées respectivement aussi au haut et au bas de la figure.

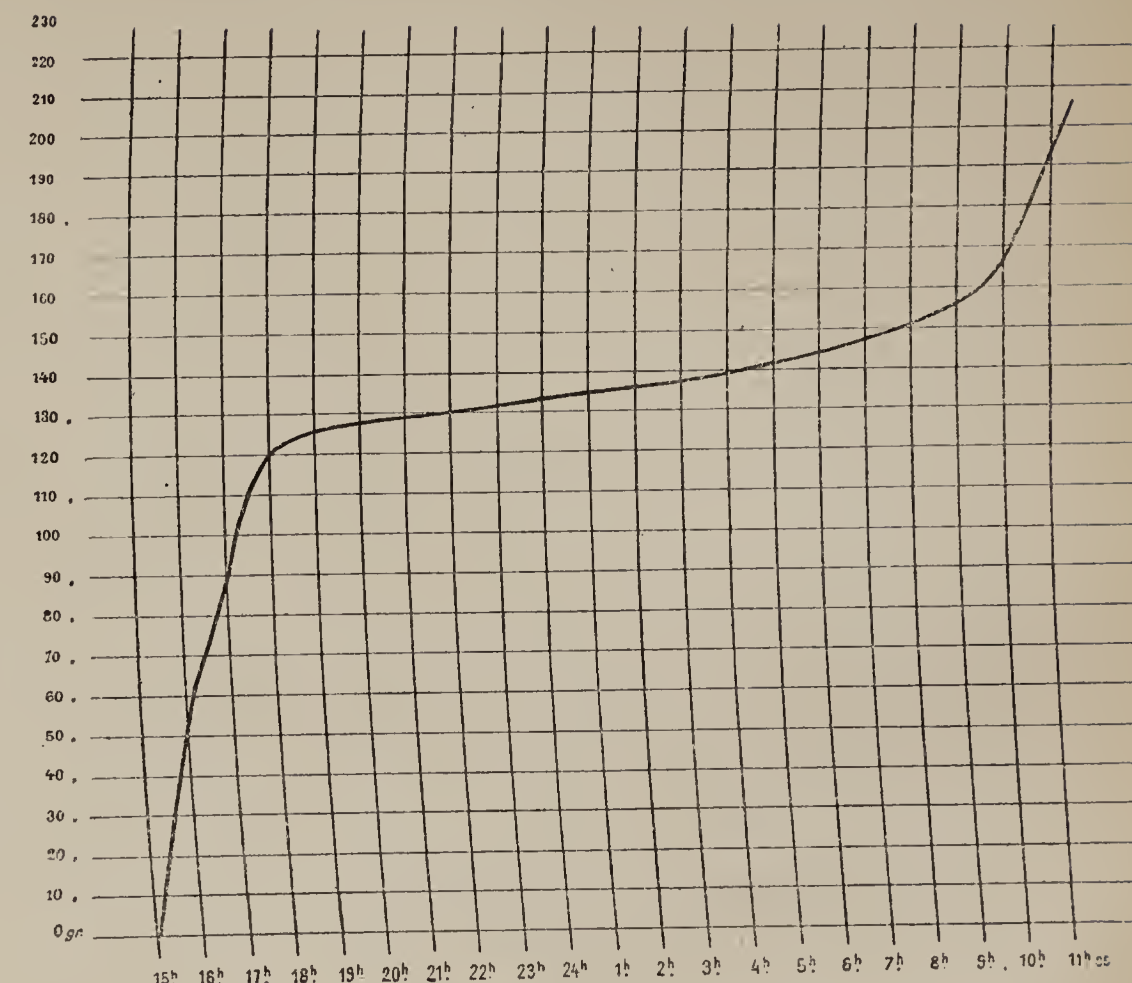
Les deux courbes (fig. 1 et 2) considérées ensemble comprennent deux parties presque horizontales correspondant à l'évaporation nocturne, et une partie fortement ascendante correspondant à la transpiration diurne. Sur cette dernière on peut relever toutes les particularités relatives à la marche de la transpiration favorisée par un temps idéal. Je les ai déjà exposées dans un mémoire précédent. Ce qui nous intéresse ici c'est surtout l'allure du graphique de l'évaporation nocturne. Les 4 parties de courbe (fig. 1, 2 et 3) qui la représentent possèdent toutes les mêmes caractéristiques.

La véranda où les plantes sont disposées rentre dans l'ombre à 18 h. 30. Si les seules conditions atmosphériques réglaient à ce moment les pertes d'eau qui s'effectuent par les organes aériens de la plante, la courbe tendrait à se confondre avec l'horizontale ; il est facile de constater qu'elle se relève au contraire, bien que la température baisse et que l'état hygrométrique augmente. La vitesse de l'évaporation croît de 21 heures à 24 heures et plus rapidement encore de 24 heures à 3 heures ; l'augmentation s'accentue de 3 heures à 6 heures, moment du minimum de température, et devient plus sensible de 6 heures à 8 heures. Le soleil atteint la véranda après 9 heures, comme l'indique l'allure nettement ascendante de la courbe.



230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0gr
17h 18h 19h 20h 21h 22h 23h 24h 1h 2h 3h 4h 5h 6h 7h 8h 9h 10h 11h 12h 13h 14h 15h

FIG. 1.



230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0gr
15h 16h 17h 18h 19h 20h 21h 22h 23h 24h 1h 2h 3h 4h 5h 6h 7h 8h 9h 10h 11h

FIG. 2.

Les portions de courbes comprises entre 5 heures et 8 heures correspondent à un éclairage produit par la lumière diffuse ; comme je n'ai pas déterminé l'influence de cet éclairage sur l'assimilation carbonique par le maïs, je ne tiendrai pas compte des indications qui se dégagent des variations correspondantes de la transpiration.

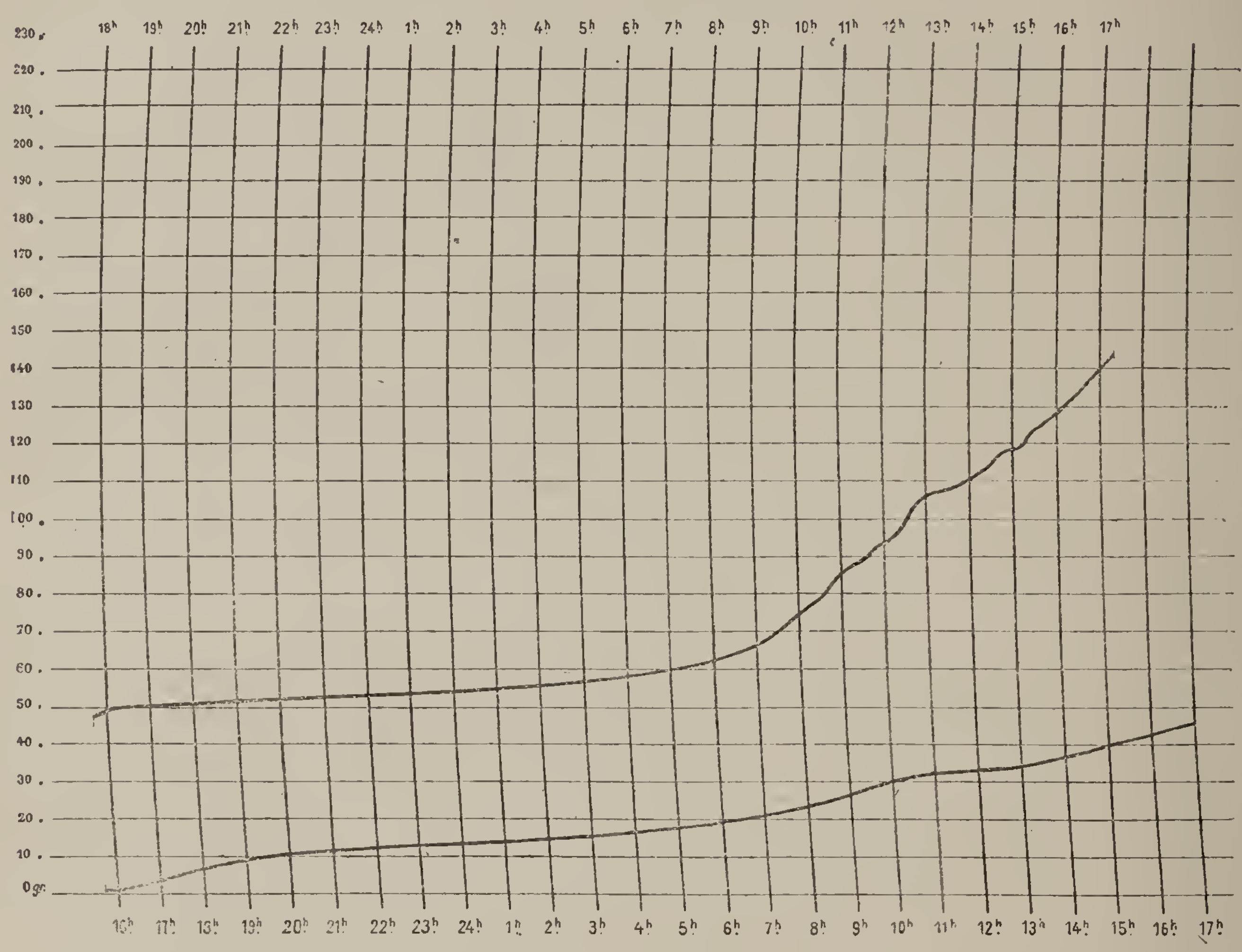


Fig. 3.

Considérons donc le graphique de la figure 1 et examinons les portions de courbe délimitées par les abscisses de valeur 21 h., 24 h., 3 h. et 5 heures. Les différences entre les ordonnées correspondantes, évaluées en grammes d'eau, sont respectivement : 4,21, 5,26 et 4,21 ; en d'autres termes, la plante a évaporé 4,21 grammes d'eau de 21 heures à 24 heures ; 5,26 de 0 heure à 3 heures et 4,21 de 3 heures à 5 heures. Les moyennes correspondantes par heure sont donc 1,40, 1,75 et 2,10 gr.

Ces chiffres traduisent la marche de l'évaporation au cours d'une nuit qui succède à un très beau jour.

Des chiffres de même ordre peuvent être relevés sur les courbes des figures 1 et 3, bien que celles de la figure 3 aient

été obtenues après des jours pendant lesquels l'assimilation a été très faible.

Ces résultats sont tout à fait opposés à ceux que l'abaissement de la température et l'accroissement du degré hygrométrique permettent de prévoir (1).

L'augmentation d'activité de la plante, qui peut seule expliquer une anomalie aussi curieuse, doit donc être attribuée à la périodicité de la circulation de la sève élaborée.

L'afflux des aliments de synthèse vers les divers points de la plante se produit donc surtout la nuit. Les graphiques montrent que l'influence de la circulation libérienne sur l'activité de la plante commence à se faire sentir deux à trois heures après le coucher du soleil.

Mais il n'en résulte pas que la sève élaborée cesse de circuler dès que les rayons solaires frappent les organes aériens de la plante. Jusqu'ici, l'expérience prouve simplement que la circulation est bien plus active à l'obscurité qu'à la lumière.

On a le droit d'en déduire aussi que la force qui met en mouvement la sève élaborée est plus accusée la nuit que le jour; en d'autres termes, la lumière gêne la circulation libérienne.

Si l'on remarque maintenant que cette circulation est tributaire de celle de la sève brute avec laquelle elle forme un cycle continu où les cellules assimilatrices constituent un interrupteur, on conçoit aisément que la lumière solaire arrête le courant en provoquant une transpiration active et faisant perdre aux feuilles leur pression de turgescence.

Nous pouvons donc faire un pas de plus dans l'interprétation des faits et dire que la périodicité de la circulation de la sève élaborée n'est pas seulement relative, mais nécessaire; on s'explique ainsi que les cellules assimilatrices fonctionnent aussi comme cellules de réserve provisoires jusqu'au coucher du soleil, où le cycle circulatoire se referme de nouveau.

Quant à la force qui anime le système, elle réside dans la pression de turgescence qui survient après le coucher du soleil,

(1) Par les belles journées, la température nocturne tombe graduellement, dans la véranda, de 34-35° (20 heures) à 20-30° (24 heures), puis à 24-25° minimum (6 heures). Le degré hygrométrique suit nécessairement une marche inverse.

et qui se fait sentir dans les cellules des feuilles où s'amorce la circulation libérienne.

L'utilité de la couche protoplasmique pariétale des tubes libériens apparaît ici évidente. Si, en effet, le système de tubes criblés n'était pas isolé des vaisseaux ligneux, la pression de turgescence s'y transmettrait directement par voie radiale et l'orientation convenable de la circulation y serait impossible. Il est indispensable qu'elle ne lui parvienne que par l'intermédiaire des cellules assimilatrices. La circulation libérienne trouve ainsi dans les feuilles la sève élaborée qui l'alimente et la force propulsive qui l'anime.

X

Mise en réserve des aliments organiques solubles.

La sève élaborée nourrit les tissus vivants de la plante et dépose dans des organes appropriés les aliments de réserve. Ces derniers sont généralement insolubles; les sucres font exception à la règle.

On a admis jusqu'ici que la présence de grandes quantités de sucre dans les tissus de réserve engendre une pression mécanique considérable, en vertu des actions osmotiques qui s'exercent dans les cellules riches en substances solubles ; mais cette pression n'a jamais été constatée par l'expérience. Il y a à cela une raison que j'ai mise en évidence, c'est que les conditions nécessaires à la production d'une force mécanique par voie osmotique ne sont pas réalisées dans la cellule vivante, puisque le sac protoplasmique s'imperméabilise pour se soustraire à l'influence de lois physiques dont les effets lui seraient rapidement fatals.

Les pressions mécaniques énormes dont l'existence dans les cellules riches en substances solubles a si fortement intrigué l'imagination des physiologistes modernes, ne sont qu'une simple vue de l'esprit ; et l'état chimique des aliments de réserve n'a pas d'autre signification que celle qui se rattache à un caractère physiologique de l'espèce considérée.

Par contre, leur accumulation dans certains organes de la plante relève des lois générales des échanges entre les divers tissus ; je les examinerai dans le cas particulier d'une racine de betterave prise au cours de la première année de l'évolution de la plante.

La racine de betterave est le siège de deux circulations inverses, celle de la sève brute et celle de la sève élaborée ; les faisceaux vasculaires qui les canalisent, sont noyés dans le parenchyme saccharifère où s'accumulent, à l'état de saccharose, les divers sucres qui sont élaborés dans les feuilles.

La sève brute circule dans les vaisseaux ligneux, essentiellement perméables ; si elle ne s'enrichit pas en saccharose au cours de son passage à travers les tissus de réserve, c'est parce que ceux-ci sont imperméables au sucre ; mais, comme les cellules saccharifères reçoivent des vaisseaux libériens de nouvelles quantités de sucres, il faut admettre aussi qu'elles peuvent, à l'occasion, devenir perméables à ces mêmes sucres.

La périodicité du travail de mise en réserve apparaît ainsi comme une règle nécessaire ; on a vu, d'ailleurs, qu'elle est assurée par les conditions de périodicité de la circulation libérienne.

Les relations de la cellule de réserve, riche en saccharose, avec les tubes libériens plus pauvres en sucres, sont identiques aux rapports des poils absorbants avec une solution nutritive diluée. La mise en réserve des sucres se fait donc suivant le même mécanisme que l'absorption des aliments d'un liquide minéral faiblement concentré. Le phénomène se complique cependant, en ce sens que le sucre s'accumule dans la cellule saccharifère, au lieu d'être entraîné dans la circulation générale comme la solution physiologique du poil absorbant.

Le sucre, qui a traversé la paroi externe du sac protoplasmique, doit franchir ensuite la paroi vacuolaire pour pénétrer dans le suc cellulaire qui peut renfermer jusqu'à 15 et 20 p. 100 de saccharose.

Une nouvelle condensation de sucres sur la paroi vacuolaire doit donc se produire de façon à constituer une solution de concentration au moins égale à celle du suc cellulaire ; ce résultat obtenu, la paroi protoplasmique interne devient per-

méable, et le sucre parvient ainsi au point extrême de son trajet.

L'eau d'imbibition du protoplasme augmente nécessairement, à mesure que les apports de sucres se poursuivent; mais, comme le tissu de réserve se trouve également en relation avec la sève brute, les vaisseaux ligneux, qui sont aussi des récepteurs de sève épuisée, fournissent une voie d'évacuation à l'eau en excès, soit qu'elle se vaporise dans les organes aériens, soit qu'elle transsude à l'état liquide par les pores aquifères des feuilles.

Le processus de la mise en réserve se déduit ainsi, par analogie, du mécanisme de l'absorption. Comme ce mode de raisonnement n'est pas à l'abri de tout reproche, il convient de le justifier par des faits.

On sait que la richesse saccharine de la racine de betterave augmente rapidement par les périodes de sécheresse; elle diminue, au contraire, de façon sensible, dès que des pluies persistantes reviennent.

L'analyse chimique prouve que ces variations sont dues en partie aux fluctuations de l'eau d'imbibition du parenchyme saccharifère.

La racine de betterave peut, en effet, céder de l'eau aux organes aériens pendant les périodes de sécheresse et en accumuler, au contraire, pendant les jours de pluie. Sa richesse relative en saccharose suit naturellement ces oscillations, mais la quantité absolue de sucre subit des variations bien moins étendues.

Ces faits sont des conséquences immédiates de la perméabilité essentiellement réglable des cellules de réserve; ils mettent en évidence ce degré particulier de porosité compatible avec l'absorption ou l'émission de l'eau par le sac protoplasmique, sans entraînement de sucre.

Conclusions générales.

Le mécanisme de l'absorption des substances nutritives d'une solution naturelle ou artificielle ne comporte pas l'intervention de l'osmose.

Les facteurs que les cellules absorbantes mettent en œuvre

pour introduire les substances alimentaires dans la circulation sont : la motilité du protoplasme et les phénomènes d'attraction moléculaire.

Les échanges ne sont possibles qu'autant que le milieu nutritif renferme tous les éléments nécessaires à la plante, à une concentration déterminée.

Les solutions incomplètes et l'eau distillée introduites directement dans les faisceaux vasculaires, se comportent comme de véritables toxiques.

En règle générale, l'absorption de ces liquides par les racines ou par des organes détachés n'a pas lieu. Les résultats des investigations faites dans cet ordre d'idées présentent des particularités que l'on ne peut expliquer, parce qu'on ignore encore la nature des influences que les substances dissoutes exercent sur le protoplasme.

On sait pourtant qu'elles provoquent la plasmolyse, lorsqu'elles sont portées à une concentration convenable. Mais la plasmolyse doit être considérée comme un phénomène de coagulation, puisque les actions osmotiques ne s'exercent pas entre la cellule vivante et le milieu extérieur.

Une pression mécanique favorisant l'accumulation de la sève dans une plante à l'état de repos végétatif, s'exerçant au niveau des poils absorbants (poussée des racines), n'est pas possible pour la même raison.

L'absorption de la sève est réglée par l'activité chimique de la plante, et c'est l'imbibition, aidée de la pression atmosphérique, qui en assure l'ascension, quelle que soit la hauteur du végétal.

La pression de sève, les pleurs, la sudation, la perte de turgescence, sont des phénomènes qui traduisent les variations de pression à l'intérieur de la plante. Ces variations résultent du manque d'équilibre entre l'absorption et la vaporisation.

L'inégalité de pression interne sur les deux faces d'une tige, provoquée par un éclairage unilatéral, produit l'orientation phototropique de cette tige.

La circulation de la sève élaborée est assurée par la pression de turgescence des cellules assimilatrices. Cette pression ne peut exister qu'à l'obscurité. La circulation de la sève élaborée est donc un phénomène périodique; elle emprunte la voie libé-

rienne pour porter les aliments de synthèse dans toutes les parties du végétal.

Le système libérien isolé des vaisseaux ligneux par le protoplasme qui tapisse la paroi des tubes, assure l'alimentation des divers organes de la plante, sans que les deux courants de sève brute et de sève élaborée se contrarient.

La circulation libérienne est cependant subordonnée à la circulation ligneuse ; les cellules assimilatrices établissent, entre elles, une communication qui se rompt le jour et se rétablit la nuit.

Les échanges entre la sève élaborée et les divers tissus de la plante, s'accomplissent suivant le mécanisme qui régit l'absorption. L'accumulation d'aliments solubles dans les cellules de réserve s'explique de la même manière ; mais elle ne produit pas de pression mécanique à l'intérieur des cellules ; une telle pression n'a jamais été observée ; elle constitue une simple vue de l'esprit.

En résumé, l'expérience et l'observation directe des faits prouvent que les échanges entre la plante et sa solution nutritive, entre ses divers tissus, sont assurés par le simple jeu de forces mécaniques parmi lesquelles la motilité du protoplasme tient une place prépondérante, en raison de son rôle dans le réglage de la perméabilité.

Je ne saurais mieux matérialiser cette conclusion qu'en rappelant le tableau que nous offrent les amibes et les plasmodes, évoluant librement dans un milieu relativement illimité ; leurs mouvements et leurs modes de nutrition donnent une image agrandie et fidèle des mouvements et du mode de nutrition du sac protoplasmique, confiné dans l'espace restreint formé par la membrane cellulosique.

UNE ÉPIDÉMIE DE DYSENTERIE HÉMORRAGIQUE

DANS UN ESCADRON DE DRAGONS

par le Dr GEORGES BERTILLON

Du 20 juillet au 15 août un hôpital auxiliaire a reçu successivement 10 cavaliers d'un escadron de dragons atteints d'une dysenterie hémorragique qui, dans cinq cas, fut extrêmement grave.

Caractères épidémiques.

Le caractère épidémique de cette maladie est souligné par les circonstances suivantes. Les dix malades observés viennent tous du même escadron de dragons, cantonné dans une grande écurie de courses de la ville. Aucun des trois autres escadrons dont les cantonnements sont dispersés dans la même commune, tout en nous envoyant des malades, ne nous a fourni un seul cas semblable. Le foyer de la maladie a donc été nettement limité au cantonnement de dragons; un jeune domestique de quatorze ans d'une villa toute voisine (la largeur d'un chemin les sépare) fut le seul civil atteint et le seul de ces dysentériques qui, malheureusement, succomba. Ce cantonnement se trouve dans le fond d'un parc, dans un endroit où les habitations, entourées de jardins, sont assez clairsemées.

Les cinq cavaliers les plus gravement atteints nous arrivèrent du 20 au 27 juillet, à un ou deux jours d'intervalle; le jeune domestique que j'ai soigné à l'hôpital civil (maison Lupin) vint à la même époque; l'infirmier qui le soigna fut atteint très gravement, mais guérit. Les cinq autres cas militaires s'espacèrent dans le mois d'août, deux furent sérieux, trois assez bénins.

Dans les douze cas observés la maladie se présenta avec les caractères suivants.

Marche de la maladie.

Tout d'abord une diarrhée qui pendant quelques jours ne présente rien de spécial, puis les selles deviennent plus fréquentes et s'accompagnent de coliques; surviennent alors les selles glaireuses et sanglantes dont la fréquence va s'accentuant. Leur nombre par vingt-quatre heures a été en général de 15 à 20 dans la période d'état; dans trois cas il s'est élevé jusqu'à 20, 30 et une fois 35; à mesure que la situation du malade s'améliore les selles deviennent moins fréquentes, mais lentement, et ce n'est guère qu'à partir du 8e, 10e ou 15e jour qu'elles s'espacent peu à peu, et elles ne reprennent leur taux normal qu'environ huit jours après.

Ces selles semblent constituées par la desquamation de l'intestin et du mucus teinté de sang d'un rouge plus ou moins vif, plus ou moins éteint; je n'ai jamais observé d'évacuation de sang pur. Au commencement de la période de guérison les selles deviennent bilieuses et moins fétides.

L'aspect du malade se préjuge par l'état d'extrême faiblesse où le mettent ces évacuations incessantes, et aussi la frayeur. Il conserve toute sa lucidité; le jeune domestique qui est mort ne l'a guère perdue que dans les deux ou trois derniers jours (sa maladie a duré vingt-cinq jours). Le facies est donc grippé, la soif intense, le pouls rapide quoique la température ne dépasse guère 38°5 ou 39 degrés; un seul cas avec 39°5 et 40 degrés pendant deux ou trois jours. En général la marche de la température n'a rien de régulier, ni de significatif. Elle peut être normale, ou élevée, ou faiblement élevée avec des selles très fréquentes ou modérément fréquentes. Un malade ayant 35 selles par vingt-quatre heures avait 37°4 de température. Je n'ai jamais observé de vomissements ni de complications pulmonaires.

Deux malades très gravement atteints ont présenté à la période de convalescence des douleurs rhumatismales aux grandes jointures; chez l'un d'eux elles étaient accompagnées d'œdème aux mains, aux pieds et aux malléoles, et d'iritis très marqué a un œil, avec un souffle léger à la pointe du cœur. Toutes ces complications ont guéri.

La période de convalescence une fois commencée, celle-ci se fait franchement. Nos malades, qui avaient maigri de 13 à 20 et même 22 kilogrammes, les ont rattrapés à peu près sans incidents.

Le petit domestique qui est mort au 25e jour de sa maladie a été autopsié. A part le gros intestin, tous les viscères, soigneusement examinés sur la table, n'ont rien présenté à signaler. Tout le gros intestin, depuis le cæcum jusqu'à l'anus, est comme truité de taches noires plus ou moins rondes, espacées de un, deux ou trois centimètres ; à leur siège l'intestin paraît comme pigmenté. Je n'ai trouvé qu'une ulcération vraie en haut du rectum, elle a environ deux centimètres de long sur un demi de large. Il faut encore signaler l'absence presque absolue de sang dans l'appareil vasculaire ; la mort paraît être due à l'hémorragie constante sans rémission du gros intestin pendant vingt-cinq jours.

Ces douze cas de dysenterie hémorragique, à part un sur lequel je vais revenir, ont été soignés de diverses manières, qui ont toutes été d'un effet nul sur la marche de la maladie.

Les premiers cas ont été soignés par le sérum antidysentérique qui ne donna aucun résultat.

Des injections d'émétine furent sans effet.

L'opium, la diète et surtout les injections répétées d'eau salée restèrent nos seuls moyens. Les douleurs et la soif étaient ainsi calmées ; les injections d'eau salée, réclamées par les malades, avaient le grand avantage de faciliter la diurèse, de relever la tension sanguine, en résumé de gagner du temps.

Dans un seul cas nous avons pu employer une médication vraiment spécifique dont l'effet fut excellent. Le 16 août le Dr d'Hérelle, de l'Institut Pasteur, nous remit un auto-vaccin. Nous avons fait trois injections, respectivement de 5, 10, 15 millions de bacilles, à deux jours d'intervalle. Le 16 août, le malade avait depuis quatre jours 30 à 35 selles par jour, avec 37°9 de température, il était dans un état des plus graves et presque au bout de sa résistance. A midi il reçoit sa première injection, le soir sa température monte à 39 degrés, qu'il n'avait jamais eus. Le lendemain 17 août, il n'a que 25 selles avec 37°4 et 38 degrés. Le 18 août, il reçoit la deuxième injection : 21 selles, température 38 degrés. Le 19 août il n'a plus que

9 selles avec 38 degrés. Le 20 août il reçoit sa troisième et dernière injection, il n'a déjà plus que 6 selles et comme température 37°5. Les trois jours suivants les selles tombent à 5, 3 puis une et la température a 37 degrés. Guérison rapide sans complications.

Cette observation de traitement par l'auto-vaccin, malheureusement unique, est à mes yeux très valable pour la démonstration de l'effet thérapeutique obtenu, parce que jamais dans aucun des autres cas guéris sans vaccin, par la marche naturelle de la maladie, je n'ai obtenu une guérison aussi rapide et surtout sous cette forme.

Pour compléter cet exposé il me paraît intéressant de dire que deux militaires venant l'un d'une localité voisine, l'autre d'un train sanitaire, ont eu à la même époque de la dysenterie hémorragique, très peu grave d'ailleurs, et que l'examen des selles, pratiqué par le D[r] d'Hérelle (Voir le Mémoire ci-dessous), a montré qu'il s'agissait du bacille de Flexner, les cas dont il a été question dans la présente note, suivant le même bactériologiste, ayant été causés par un bacille dysentérique différent.

SUR UN BACILLE DYSENTÉRIQUE ATYPIQUE

par F. D'HÉRELLE.

Dans le courant du mois de juillet dernier, éclata une épidémie localisée de dysenterie, qui sévit uniquement sur un escadron de dragons cantonné dans une écurie de courses (1).

Une enquête permit de découvrir facilement la cause de la contagion : les feuillées étaient creusées à une vingtaine de mètres des cuisines; les mouches, très nombreuses, devaient servir d'intermédiaires entre les déjections des hommes et leur nourriture. L'épidémie cessa d'ailleurs, aussitôt que de nouvelles feuillées eurent été creusées dans un endroit plus éloigné.

Il me fut impossible d'obtenir aucun renseignement sur l'origine du premier cas constaté : aucun homme de l'escadron ne partit en permission pendant les trois mois précédant l'apparition de la maladie, aucune nouvelle recrue ne fut incorporée pendant ce laps de temps.

Les injections de sérum antidysentérique se montrèrent sans aucune action sur la marche de la maladie.

J'examinai les selles de cinq des onze malades qui entrèrent à l'hôpital : toutes les cinq présentaient l'aspect macroscopique et microscopique typique de dysenterie bacillaire.

Dans les cinq cas, je pus isoler un même bacille; bâtonnet immobile de 2 à 3 μ, ne prenant pas le Gram, cultivant bien dans le bouillon ordinaire qu'il commence à troubler en quatre heures, formant des ondes moirées par agitation, ne donnant ni voile ni collerette, même après plusieurs jours. La gélatine n'est pas liquéfiée. Somme toute, tous les caractères morphologiques et culturaux d'un bacille dysentérique.

La vitalité paraît plus forte que celle des bacilles types Shiga ou Flexner : on le retrouve vivant après deux mois et demi

(1) Voir ci-dessus le mémoire du Dr Bertillon.

de culture sur gélose ordinaire. Il est tué par un chauffage d'une demi-heure à 56 degrés. Je l'ai retrouvé vivant après douze jours à la température du laboratoire dans de l'eau stérilisée.

La réaction au nitrite de sodium et acide sulfurique ne décèle pas d'indol dans les cultures de six jours, en bouillon peptone Martin.

Il fait fermenter, sans dégagement de gaz, le maltose, le glucose, la mannite, le galactose, le lévulose; ne fermente ni le lactose, ni le saccharose. Le lait n'est pas coagulé; en petit-lait tournesolé, milieu Pétruschky, la culture est peu abondante, le milieu vire définitivement au rouge.

Les milieux au rouge neutre ne sont pas altérés. On n'observe aucune coloration sur la gélose à l'acétate basique de plomb.

Le bacille étudié ne pousse pas sur culture raclée de Shiga, de Flexner ou de typhique; inversement, on n'obtient pas non plus de culture.

Le bacille n'agglutine à aucun taux, ni par le Shiga-sérum, ni par le Flexner-sérum, ni par le sérum polyvalent de l'Institut Pasteur, préparé en injectant aux chevaux des cultures de diverses races de Shiga, de Flexner et de Hiss. Le sérum d'un malade, au début de sa convalescence, ne l'a pas agglutiné.

Le bacille étudié est toxique : 1/15 de culture sur gélose en tube de 17 millimètres, de vingt-quatre heures, tue le lapin en moins de douze heures, que l'injection ait été faite par voie intraveineuse, intrapéritonéale ou intramusculaire.

Deux lapins reçoivent en injection sous-cutanée 1/20 de culture sur gélose de vingt-quatre heures. Ils meurent respectivement après quatre jours et demi et six jours; leur poids est tombé de 2 kil. 100 et 2 kil. 600 à 1 kil. 800 et 1 kil. 950. Pendant les trois derniers jours de la maladie, on note une diarrhée muqueuse; environ quarante-huit heures avant la mort, survient une paralysie complète du train postérieur. A l'autopsie, tous les organes semblent normaux, à l'exception de la rate qui est légèrement augmentée de volume et du gros intestin qui est fortement congestionné : la muqueuse est parsemée de suffusions hémorragiques, mais sans ulcérations.

Les inoculations ont été faites avec des germes récemment isolés des selles. La virulence paraît s'atténuer assez rapidement en culture : après trois mois et neuf repiquages sur gélose, la dose mortelle par voie intrapéritonéale était passée à 1/4 de culture sur gélose en tube de 17.

En résumé, le bacille de l'épidémie qui nous occupe appartient à un type intermédiaire entre le Shiga et le Flexner, mais n'est agglutiné ni par le Shiga-sérum, ni par le Flexner-sérum. Le fait méritait d'être signalé pour éviter certaines méprises dans le diagnostic bactériologique de la dysenterie : le même bacille pouvant se retrouver dans d'autres épidémies. Le tableau suivant permettra d'un coup d'œil de voir les différences qui existent entre le nouveau bacille désigné sous le nom d'Hérelle et les bacilles dysentériques décrits jusqu'à présent.

	Shiga.	Flexner.	Hiss.	Strong.	Gay.	d'Hérelle.
Indol.	—	+	+	?	?	—
Fermente lactose	—	—	—	—	—	—
Fermente glucose. . . .	+	+	+	+	+	+
Fermente mannite. . . .	—	+	+	+	±	+
Fermente maltose. . . .	—	+	—	—	+	+
Fermente saccharose . .	—	+	—	+	+	—
Agglut. Shiga-sérum . .	+	—	—	—	—	—
Agglut. Flexner-sérum .	—	+	+	—	+	—
Agglut. Hiss-sérum . . .	—	+	+	—	+	—
Action pathog. expér. . .	+	—	—	?	?	+

ERRATA

Annales de janvier 1916, Mémoire de Hideyo Noguchi.

Page 3, titre courant, *au lieu de* : Artificiel, *lire* : Artificial.

Page 3, ligne 1, *au lieu de* : varieties the of *Treponema* group, *lire* : varieties of the...

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur. 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Avril. — N° 4.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET C[ie], ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6[e]).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et C[ie],
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉP[ARTE]MENTS ET UNION POSTALE : **20** francs.

SOMMAIRE DU N° 4

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : **18** fr. — Union postale : **20** fr.

P. LEQUEUX*, Ingénieur des Arts et Manufactures

Maison WIESNEGG, 64, rue Gay-Lussac, Paris

Fournisseur de l'Institut Pasteur et de la Faculté de médecine de Paris

STÉRILISATEURS, ÉTUVES, APPAREILS DE DÉSINFECTION

Installations de Laboratoires de bactériologie.

Exposition univ. Paris 1900 : DEUX GRANDS PRIX

MICROSCOPES NACHET

Magasins et Ateliers : **17, rue Saint-Séverin, PARIS.**

GRAND PRIX (Exposition de Bruxelles 1910)

FUMIGATOR GONIN

PROCÉDÉ DE DÉSINFECTION A L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Breveté S. G. D. G.

Approuvé par le Conseil supérieur d'Hygiène publique de France | Autorisé par Décision ministérielle du 9 février 1904

Le **FUMIGATOR** est le plus *simple* et le plus *discret* des procédés de désinfection



Fumigator n° 4 au 5e.

MODE D'EMPLOI :

Cuber la pièce à désinfecter. Se munir d'autant de fumigators n° 4 qu'il y a de fois 20m³. Pour les fractions supplémentaires, on prend des nos 3.

Chaque fumigator est livré avec son support et ne nécessite aucun accessoire supplémentaire.

PRIX

Le FUMIGATOR n° 3, au FORMOL, pour 15m³. 2 fr. 30
— n° 4, — pour 20m³. 2 fr. 75

N.-B. — Chaque fumigator est accompagné d'un certificat de désinfection.

Adresser les commandes aux

ÉTABLISSEMENTS GONIN

60, rue Saussure, PARIS (17e). — *Téléph.*: 517-23.

SAVONS ANTISEPTIQUES VIGIER

HYGIÉNIQUES ET MÉDICAMENTEUX

Pharmacie · 12, boulevard Bonne Nouvelle, PARIS

SAVONS doux, surgras au Cacao, à la Glycérine (*pour le visage, la poitrine, le cou*, etc.). Panama, Panama et Goudron, Naphtol soufré, Goudron et Naphtol *pour les soins de la chevelure, de la barbe, pellicules, séborrhée, alopécie, maladies cutanées*, Sublimé, Phéniqué, Boriqué, Créoline. Résorcine, Salicylé, au Solvéol, Thymol (*accouchements, anthrax, rougeole, scarlatine, variole*, etc.), à l'Ichthyol, Panama et Ichthyol, Sulfureux, à l'huile de Cade, Goudron, Boraté, au Tannoforme contre *les sueurs*, B. du Pérou et Pétrole, *gale, parasites*.

SAVON DENTIFRICE VIGIER

LE MEILLEUR DENTIFRICE ANTISEPTIQUE

pour l'entretien des dents, gencives, muqueuses. Il prévient les accidents buccaux. Prix de la boite porcelaine : 3 fr

30e ANNÉE AVRIL 1916 N° 4

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

THE PLURALITY OF SPECIES OF THE SO-CALLED "THRUSH-FUNGUS" (CHAMPIGNON DU MUGUET) OF TEMPERATE CLIMATES

by ALDO CASTELLANI M. D.
Director Clinic for Tropical Diseases, Colombo (Ceylon).

In previous publications I have, I think I may venture to say, succeeded in demonstrating the plurality of species in the tropics (Ceylon and Southern India) of the so-called « Thrush » fungus, viz. that the hyphomycete generally known by the term of oidium or *saccharomyces*, or *monilia albicans*, does not represent in the Tropics merely one species, but that the term covers a large number of different species of fungi, that in fact some of these fungi probably belong to different genera.

While on leave in Europe in 1913, I thought it might perhaps be of interest to investigate whether the same conclusion could be come to in temporate zones; and thanks to the kindness of prof. Martin I was able to carry out some work on the subject at the Lister Institute of London. It was not difficult to foresee that similar conclusions would probably be obtained, considering the widely different descriptions which the various

authorities give of the thrush fungus, some stating that it liquefies gelatine, others affirming the reverse; some writers giving it as clotting milk: others as having no action on this medium. How could the same species present such widely differing characters?

During my work on the subject in London, all swabs sont to the Lister Institute for examination, taken from cases of thrush stomatitis, were kindly handed to me. Each swab was smeared on two maltose and two glucose agar plates, and every colony of fungi was investigated in the same manner as I had investigated the thrush found in the tropics, viz. by passing them through a number of sugar broths, and growing them on milk gelatine, and serum. It seems to me that the classification of fungi of the genera *monilia*, *saccharomyces*, and *cryptococcus*, cannot be based purely on their morphology; their biochemical characters should be studied, and whenever possible, their biological properties, such as productions ot agglutinins, etc. in inoculated animals.

The most important biochemical properties are put in evidence by growing the fungi in milk, gelatine, and various sugar broth. A large number of sugars should be used in the same manner as is done in the classification of the various species of intestinal bacteria. It is to be noted that the reactions with certain sugars are constant, while with others, for instance mannite, may vary. It is to be noted also that in analogy to intestinal bacteria, a species may be trained to ferment certain sugars in which it did not act when recently isolated. While taking all this into account, I believe the investigation of the various biochemical reactions to be of the greatest value for classifying these fungi.

In London, from 11 cases of thrush, seven different species of fungi belonging to the genus *monilia* were isolated. The characteristics of each species are collected in the following Table:

Morphologically all the fungi had the characters of those belonging to the genus *monilia*. None belonged to the genus *endomyces*, no endospores and asci having been seen. They all grew abundantly on the various sugar agars, especially if slightly acid, less abundantly on ordinary agar. On solid

TABLE Nº I, SHOWING CULTURAL REACTIONS OF VARIOUS MONILIAS FOUND IN LONDON

	LITMUS MILK	GLUCOSE	LAEVULOSE	MALTOSE	GALACTOSE	SACCHAROSE	LACTOSE	MANNITE	DULCITE	DEXTRIN	RAFFINOSE	ARABINOSE	ADONITE	INULIN	SORBITE	INOSITE	SALACIN	AMYGDALIN	ISODULCITE	ERYTHRITE	GLYCERINE	BROTH	PEPTONE WATER	GELATINE	SERUM
Monilia, nº 1.	0	AG	AG*vs*	AG*s*	A*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	0
Monilia, nº 2.	C	AG	AG	AG*s*	A	A	0	0	0	A*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	C	C	0	0
Monilia, nº 3.	C	AG	AG	AG*s*	AG	A	A	A	0	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	0
Monilia, nº 4.	C	AG	AG	Alk	A	AG	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	0
Monilia, nº 5.	C	AG	AG	A	A	A	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	C	C	0	0
Monilia, nº 6.	C	A	AG	AG	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	0
Monilia, nº 7.	C	AG*vs*	0	AG*vs*	A	A	A	0	0	A	A	A	0	0	0	A	A	AC	0	0	A	C	C	0	0

Abbreviations used in the table :
A, acid; Alk, alkaline; C, clot; C, clear (broth and pepton water); G, gas; 0, negative result, viz. neither acid nor clot in milk, neither acid nor gas in sugar media, or non liquefaction of gelatine or serum as the case may be; *s*, slight; *vs*, very slight.

TABLE N° II, SHOWING CULTURAL REACTIONS OF VARIOUS
WITH NAMES ARRANGED

	LITMUS MILK	GLUCOSE	LAEVULOSE	MALTOSE	GALACTOSE
Monilia Albicans (Ch. Robin), 1853, Em. Cast., 1909 (1)	AC	AG	AG*s*	AG*s*	AG
— *Blanchardi*, Cast., 1912	A*vs*/Alk	AG*s*	A	A	A
— *Bronchialis*, Cast., 1910	0	AG	AG	AG	0
— *Burgessi* Cast., 1912	0/Alk	AG*s*	A	AG*s*	A
— *Chalmersi*, Cast., 1912	A*s*/Alk	AG	AG	A*s*	AG*s*
— *Communis*, Cast., 1912	A*s*/D	A	AG*s*	A*vs*	A
— *Decolorans*, Cast. et Loix, 1913	DFC	AG*s*	AG	AG*s*	A
— *Enterica*, Cast., 1911	0/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Faecalis*, Cast., 1911	A/DP*s*	AG	AG	AG	AG*s*
— *Faecalis*, n° 2, Cast.	AC*s*	AG	AG	AG	AG*s*
— *Faecalis*. n° 3, Cast.	AP*s*	AG	AG	AG	AG*s*
— *Guillermondi*, Cast., 1910	0/Alk	AG	AG	A*s*	A
— *Insolita*, Cast., 1911	A*s*/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Insolita*, n° 2, Cast.	A*s*	AG	AG	AG	AG
— *Intestinalis*, Cast., 1911	AD*s*	AG	AG	A*s*	A
— *Krussi*, Cast., 1909	0	AG	AG	0	0
— *Lustigi*, Cast., 1912	AD	A	AG*s*	A*vs*	A
— *Negrii*, Cast., 1911	A*vs*/Alk	AG	AG	A*s*	AG*s*
— *Nitida*, Cast., 1910	A/DC	AG	AG	A	A
— *Nivea*, Cast., 1910	0/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Nivea*, n° 2, Cast	A	AG	AG	AG*s*	AG*s*
— *Para-Tropicalis*, Cast., 1909	A*s*/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Pseudo-Tropicalis*, Cast., 1909	AC*s*	AG	AG	0	AG*s*
— *Perryi*, Cast., 1912	A*s*/AlkD	A	AG*s*	A	A
— *Pinoyi*, Cast., 1910	0	AG	AG	AG	0
— *Pulmonalis*, Cast., 1911	0/AlkD	AG	AG	AG	AG*s*
— *Rhoi*, Cast., 1909	A*s*/Alk	AG	AG	A*vs*	AG*s*
— *Rotunda*, Cast., 1911	AC	A	A	A	A
— *Rugosa*, Cast., 1910	A/P*s*C*s*	A*s*	A*s*	A*s*	A*s*
— *Tropicalis*, Cast., 1909	A	AG	AG	AG	AG*s*
— *Tropicalis*, n° 2, Cast	A*s*/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Tropicalis*, n° 3, Cast.	0/Alk	AG	AG	AG	AG
— *Zelanica*, Cas.., 1910	AC*s*	A	A	A	A

Abbreviations used in the table :

A, acid; A/Alk, acid then alkaline; B, meadium surrounding growth brown; C, clot; neither acid nor clot in milk, neither acid nor gas in sugar meadia, non production of TP, thin pellicles; +, positive result; *s*, slight; *vs*, very slight; F, fine.

(1) Since 1909, when I started the classification of *monilias*, I have retained the term authourities (Hewlettek) have given these characters to the fungus.

SPECIES OF MONILIAS FOUND IN CEYLON AND SOUTHERN INDIA,
IN ALPHABETICAL ORDER.

SACCHAROSE	LACTOSE	MANNITE	DULCITE	DEXTRIN	RAFFINOSE	ARABINOSE	ADONITE	INULIN	SORBITE	BROTH	PEPTONE WATER	INDOL	GRAM	GELATINE	SERUM
A*vs*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTP	C	0	+	+	+
A	0	0	0	0	A*s*	0	0	A*vs*	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	A	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG	0	9	0	0	A*s*	0	0	AG*s*	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	A	AG*s*	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
A	0	0	0	A	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG	0	A*s*	0	A*s*	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	9	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG	0	0	0	0	AG*s*	0	0	0	0	CTP	C	0	+	0	0
AG	0	A*s*	0	0	0	0	A*vs* or 0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG*s*	0	A*s*	0	0	0	0	A*vs* or 0	0	0	C	C	0	+	0	0
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	G	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	A	AG*s*	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG	0	0	0	0	AG*s*	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
A	A	A	0	A*vs*	A*s* or 0	0	0	0	0	CTP	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	AG	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
A	0	0	0	0	AG	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG	0	0	0	A*vs*	0	0	0	0	0	CTP	C	0	+	0	0
AG	AG	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	A*s*	0	0	A*vs*	0	C	C	0	+	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG	0	A*vs*	0	0	A	AG*s*	0	0	0	CTP	C	0	+	0	0B
AG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
0	A	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
A*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
AG*s*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0B
AG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTP	C	0	+	0	0B
AG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C	C	0	+	0	0
A	A*s*	0	0	A	A*vs*/A*vs*	0	0	A*v*	0	C	C	0	+	0	0

C, clear (broth and pepton water); D, decolourized; G, gas; 0, negative result, viz. :
indole, non liquefaction of gelatine or serum as the case may be; P, peptonized (milks);

Monilia albicans to indicate a strain which clots milk and liquefies gelatine, as most

media the fungi could hardly be distinguished one from the other. The growth was abundant in all, of a white, creamy colour. The fungi grew under two forms : a globular form, morphologically similar to a typical yeast; and a filamentous form, showing mycelial threads simple or ramified; asci and internal spores were always absent.

Comparison with the thrush fungi found in the Tropics. — Anyone interested in the subject may compare the thrush fungi found in London with the *monilia found in the tropics*, by comparing Table I with Table II. It should be noted that several of the tropical *monilias* mentioned in Table II did not derive from cases of thrush, but from cases of bronchomycosis, blastomycosis, « tea-factory cough » etc.

Conclusions.

1. The term Thrush-Fungus (*monilia*, saccharomyces, *oidium*, *albicans*) does not indicate a single species of hyphomycete, but both in temporate and tropical zones has been used to cover a large number of different species.

2. The fungi found in 11 cases of thrush-stomatitis investigated by me in London, belonged to seven different species of the *genus monilia* Gmelin 1791. For No. 1 species of Table I, I propose the term *monilia Metchnikoffi*.

3. The fungi found in the London cases were different species from those found in the Ceylon and South Indian cases.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

THE ROLE OF LEUCOCYTES IN THE WORK ON INTERMEDIARY METABOLISM OF CARBOHYDRATES

by P. A. LEVENE and G. H. MEYER.

(From the Rockfeller Institute for Medical Research, New-York, U. S. A.)

Carbohydrates are undoubtedly the principal source of energy required for maintenance of life, particularly for the mechanical energy developed within a living organism.

The final products of combustion of sugar have been known for a long time. When the carbohydrates molecule is completely transformed into water and into carbonic acid gas, it has delivered all the available energy contained in it to the organism. The intermediate phases leading up to the final products remained unknown until very recently. True there have been advanced some theories regarding certain phases in the process of carbohydrate metabolism Particularly meritorious are the investigations of Spiro, Hoppe-Seyler and his co-workers, of Embden and co-workers, and especially of Lust and Mandel.

However the methods employed by these investigators were not of a nature to justify complete confidence in the conclusions reached by them.

In order to be acceptable a method, has to satisfy at least the following requirements; first, that all products of the reaction can be quantitativly analised and second, that the simultaneous interaction of bacteria is completely eliminated.

The search for such a method led us to think of the phagocytic faculty of white blood cells discovered by professor E. Metchnikoff. This faculty is evidently based on the presence in the leucocyte of a multitude of enzymes. It was natural to expect among them also a glycolytic enzyme. By

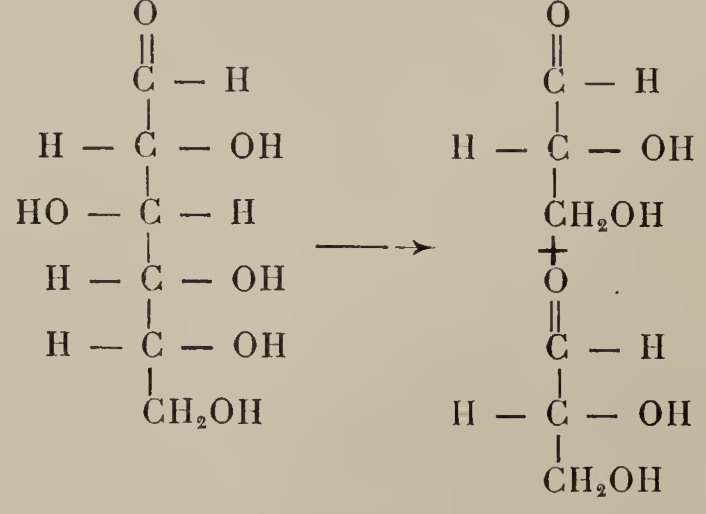
the exercise of sufficient care leucocytes can be obtained practically free from bacterial contamination. Further the experiments with leucocytes can be carried out in usual chemical flasks and test tubes, and therefore they permit of a quantative study of the products of the reaction. Hence one was encouraged to see in the leucocyte the most satisfactory agent for the study of the process of glycolysis. The expectation was realised in a considerable degree. The work in this direction was begun by the present writers in 1911, and is not yet completed. Previous to the present writers Lépine was inclined to ascribe to leucocytes the principal part in animal sugar combustion. Simultaneously with us Salte has proved that through the action of leucocytes glucose is transformed into lactic acide The study of the action of leucocytes on hexoses has led the present writers to the following conclusions.

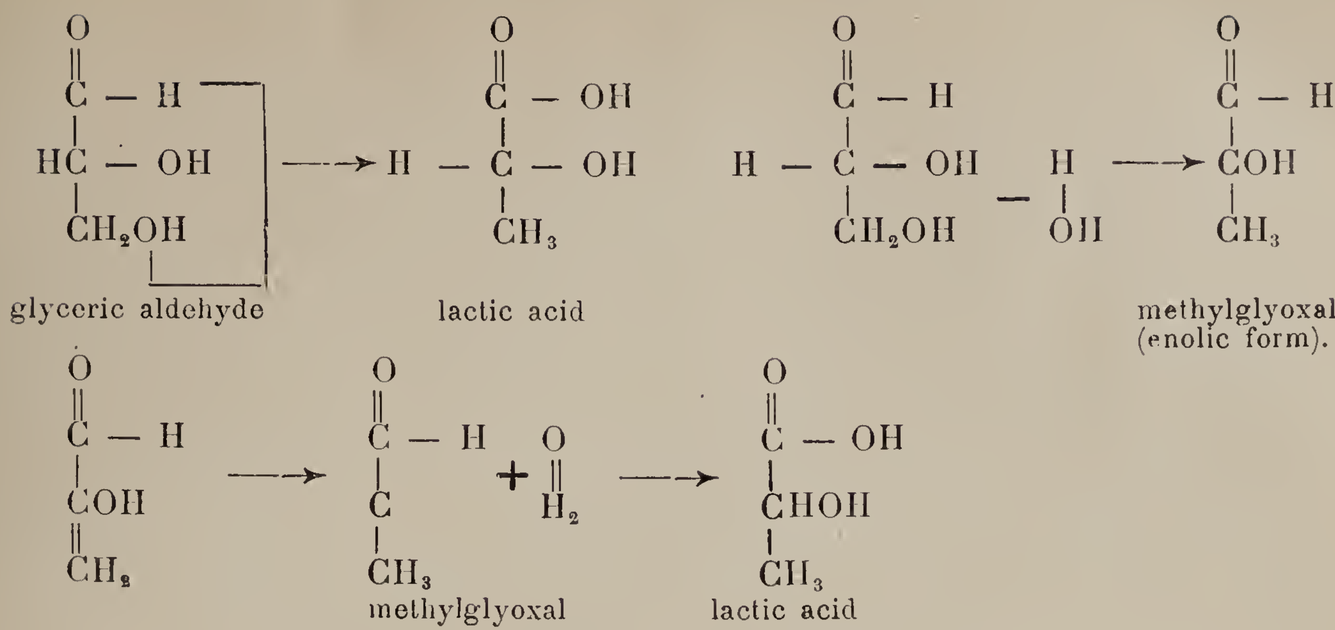
1) The hexoses are converted by leucocytes into lactic acid according to the following reaction : $C_6H_{12}O_6 = 2C_8H_6O_3$.

2) Lactic acid is apparently the final product of the reaction. When lactic acid is acted upon by leucocytes it remains unchanged. The quantity of lactic acid produced from hexoses by leucocytes is equivalent to the quantity of disappeared sugar.

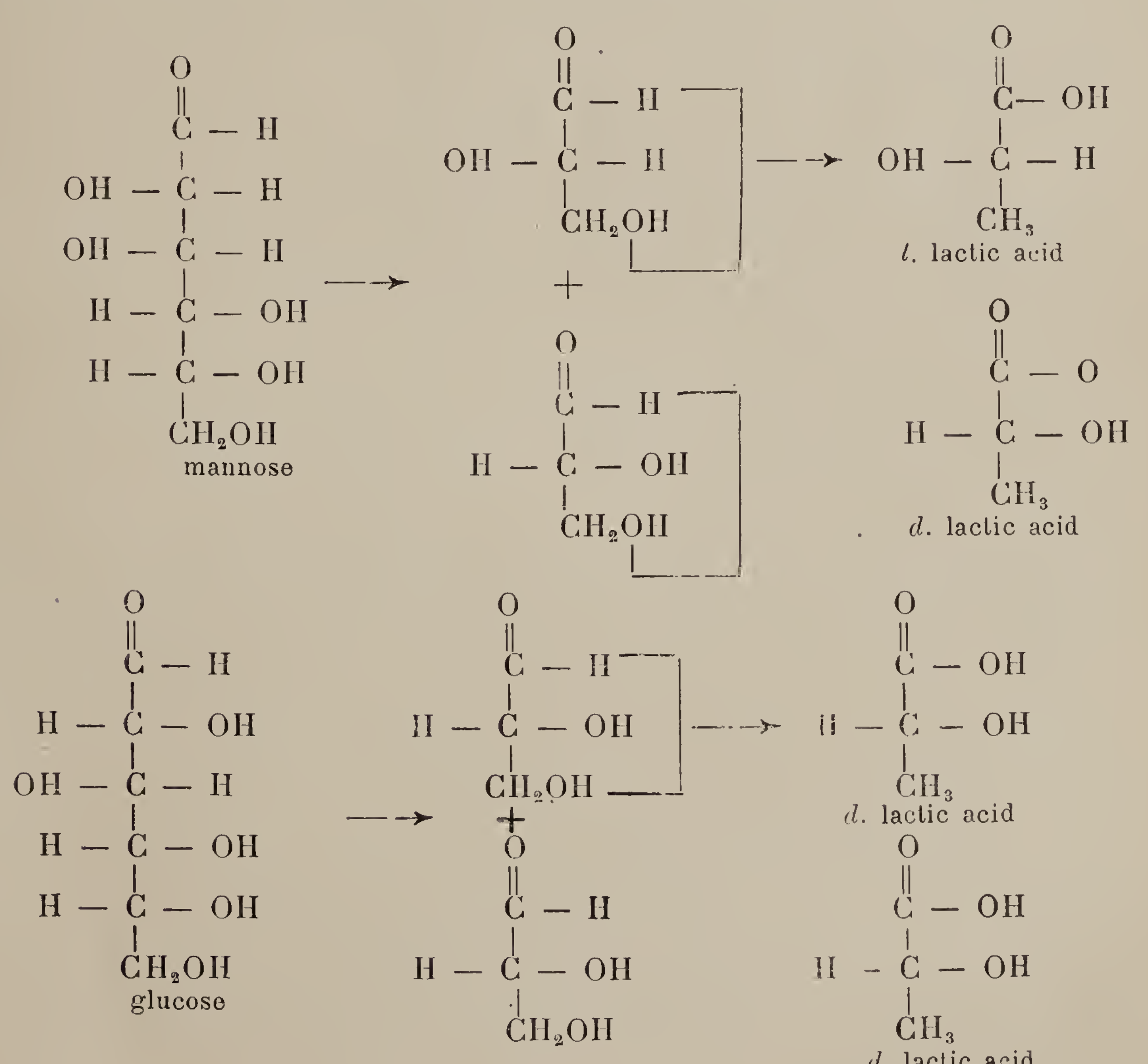
However the mechanism of this transformation is very complex. By the aid of leucocytes it was possible to elucidate some of its phases.

A priori lactic acid may be produced from hexoses through the intermediate formation of glyceric aldehyde. This in its turn may be transformed into lactic acid directly or through the intermediate formation of methylglyoxal. The process is made obvious by the following structural expressions :



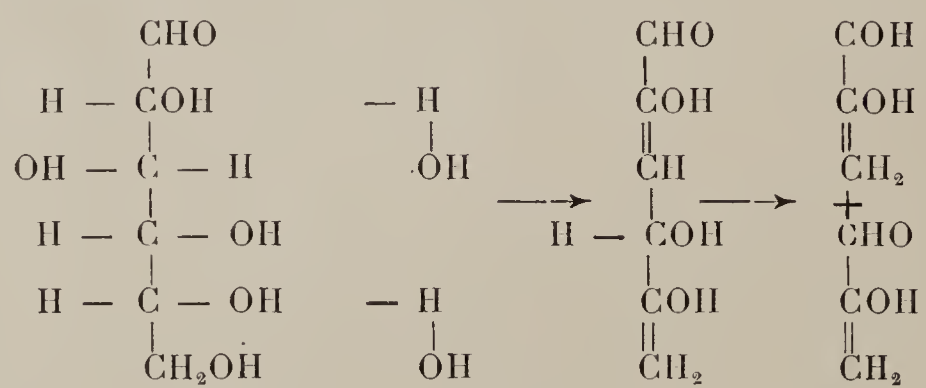


In the first process the positions of the hydrogen atom and of the hydroxyl group attached to the second carbon atom remain unchanged, in the second it may be altered; this is obvious from the graphic expression of the reactions. Bearing in mind on the one hand this consideration and on the other the configuration of various hexoses, one should expect the structure of each individual hexose to determine the structure of the lactic acid formed from it. For instance,



Hence glucose is expected to yield *d.* lactic acid and mannose *d. l.* lactic acid.

On the basis of these considerations leucocytes were allowed to act on glucose, mannose, fructose and galactose? It was found that only one form of lactic acid, namely *d.* lactid acid was produced in every experiment. On the basis of this it seemed suggestive that glyceric aldehyde is converted into lacticacid through the intermediate formation of methylglyoxal. To give more weight to this hypothesis it was necessary to demonstrate experimentally that methylglyoxal can be transformed into *d.* lactic acid through the action of leucocytes. The experiment was carried out and the result was as expected. Simultaneously and independently of us Dakin and Dudly have shown that methylglyoxal can be transformed into lactic acid by other animal tissues. The same observation was later made by Neuberg. However it must be admitted that the intermediate formation of glyceric aldehyde as a precursor to methylglyoxal is not definitely proven, neither theoretically nor experimentally. Its formation is a possibility. Methylglyoxal may also be formed through the following hypothetic intermediate phase :



However the true intermediate steps which lead to the formation of methylglyoxal from hexose still remain in the realm of conjecture. An attempt was made to bring the problem nearer solution in the following manner. The glycolytic enzyme was allowed to act on sugar in which the hydrogen of one or of more than one hydroxyl group was substituted by other radicles. The substances employed in the course of these experiments were the following : tetramethylglucose, α and β methylglucosides, lactose, sucrose, maltose and glucose-phosphoric acid. They are all derivatives of glucose. In the first

substance four hydrogen atoms of glucose are substituted. All substitutions are in the alcoholic groups. In the other substances only one hydrogen of the glucose molecule is substituted, but the place of substitution is not the same in all substances. It was found that under the conditions of the experiment only maltose underwent the same decomposition as glucose. The other substances remained intact. The cause of the different behaviour of the various sugar derivatives is explained by the fact that animal cells contain an enzyme which decomposes maltose into glucose, but they lack the enzyme which cleaves the other substances into their components. The results of these experiments show that substitution of a hydrogen atom in the glucose molecule lends to the substance resistance towards glycolytic enzymes. This conclusion is of considerable importance in connection with some recent theories of diabetes. It was claimed by some writers that sugar is not utilised by the organism unless it had an opportunity to enter into chemical union with some other substances. This theory is not sustained by our experiments with conjugated glucoses.

Conclusions.

1) Six carbon chain-sugars in course of their catabolism are transformed into methylglyoxal. This in its turn is converted into lactic acid.

2) The phases leading to the formation of methylglyoxal and those leading to the conversion of lactic acid to carbon dioxide into water are not yet known.

3) Hexoses in which one or more hydrogen atoms are substituted by other radicles are no longer affected by the glycolytic enzymes of animal tissues, unless the substituting group had been removed.

DE LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

par H. VIOLLE.

Nous avons montré, il y a quelques années, par des expériences faites sur des animaux (chiens, singes, lapins), l'importance des diastases de la digestion intestinale dans la pathogénie du choléra. Celle de la bile joue un rôle des plus considérables dans la production et l'évolution de la grande maladie asiatique. Tant que la bile se déverse normalement dans l'intestin, le vibrion ne peut se développer qu'avec peine en ce lieu; mais lorsque son cours est modifié ou suspendu, le bacille virgule y prolifère très aisément.

Par un phénomène curieux, la toxine cholérique a une action inhibitrice intense sur la sécrétion biliaire. Il s'ensuit que le développement du vibrion dans l'intestin, une fois amorcé, se poursuivra activement, de lui-même. Il en ressort également que, de même que la bile est le plus puissant cholalogue, la toxine cholérique devient ainsi le plus actif agent de sa propre production.

S'il paraît hors de doute que la cause du choléra, comme d'ailleurs celle des autres affections intestinales aigües d'origine microbienne, réside dans des modifications de sécrétions intestinales, il faut néanmoins faire intervenir une autre cause, contenue dans les sécrétions du vibrion même. La pathogénie du choléra relève ainsi d'actions diastasiques, les unes d'origine intestinale, mais biliaire principalement, les autres d'origine vibrionienne. Ces deux catégories de phénomènes, à l'exemple de tous ceux qui se passent dans l'intimité de l'organisme, n'agissent point séparément : étroitement unis l'un à l'autre, ils élaborent ou arrêtent de concert le syndrome cholérique, suivant que leurs effets s'ajoutent ou se contrarient.

Illustrons par un exemple ce pouvoir conjugué de la bile et du vibrion.

La bile, seule, n'a qu'une action insignifiante sur les substances alimentaires : albuminoïdes, hydrocarbones ou graisses.

Le vibrion, seul, agit sur les hydrocarbones, les décompose et les fait fermenter (mono-, di-, et polysaccharides). Son action est plus limitée sur les albuminoïdes, car il n'en attaque que certains groupes (gélatine, sérum, peptones, etc.). Elle est nulle sur les graisses.

Or, si la bile seule ou le vibrion seul, en contact avec des graisses, les laissent absolument indemnes, par contre le mélange de ces deux éléments, bile et vibrion, a un pouvoir saponifiant intense sur les matières grasses.

On peut le démontrer en répétant l'expérience suivante :

Nos	EAU PEPTONÉE	TOURNESOL	GRAISSE	BILE	VIBRIONS	RÉSULTATS
Témoin 1.	+	+	—	—	+	Virage négatif.
Témoin 2.	+	+	—	+	—	Virage —
Témoin 3.	+	+	—	+	+	Virage —
Témoin 4.	+	+	+	+	—	Virage —
Témoin 5.	+	+	+	—	+	Virage —
EXPÉRIENCE :	+	+	+	+	+	Virage positif.

Le mélange, mis à 37°, se fait dans des tubes à essai, et suivant les quantités approximatives suivantes :

Eau peptonée neutre.	10 cent. cubes.
Tournesol (teinture de).	Q. S. pour colorer le milieu.
Huile d'olive neutre	1 cent. cube.
Bile de bœuf, fraîche, aseptique	1 cent. cube.
Vibrion cholérique (échantillon de Constantinople), en culture de 24 heures en bouillon, à 37°	1 goutte.

Nous nous trouvons donc en présence d'un phénomène offrant une assez grande analogie avec celui de certaines diastases intestinales telles que le suc pancréatique. Le pouvoir saponifiant de ce suc est, en effet, considérablement augmenté par l'addition de bile; son pouvoir protéolytique, lui, ne se manifeste que par l'addition d'une autre substance d'entérokinase.

Mais tandis que, dans l'organisme, les deux diastases sont toutes deux de même origine humorale, ce qui est un fait banal, elles sont, dans le cas que nous citons, de provenances différentes, et c'est là un point très intéressant. C'est donc à une action humoro-bactérienne ou, plus exactement, cholalo-vibrionienne que nous avons à faire.

Nous sommes en face d'une action codiastasique, la diastase contenue dans le vibrion étant sous la forme de prodiastase inactive, activée par la bile qui jouerait ainsi le rôle de kinase ou mieux de catalyseur. L'origine de cet agent serait, soit organique (acide cholique, etc.) soit minérale (soufre, etc.).

De ce fait, et par extension, s'explique aisément la coagulation du lait par un mélange de bile et de vibrion, coagulation due à la mise en liberté des acides gras des graisses; et la non-coagulation de ce même lait additionné seulement de bile ou seulement de vibrion.

Au point de vue pathogénique, ne pouvons-nous pas émettre l'hypothèse que cette action diastasique conjuguée ait un effet abortif sur la production du choléra?

En effet, sous l'action combinée de la bile et du vibrion, les matières alimentaires de l'intestin et principalement les graisses, fournissent une réaction acide La nature de cette réaction est franchement incompatible avec le développement du vibrion.

Inversement, si la sécrétion biliaire vient à tarir (affections gastro-intestinales, hépatiques diverses), toute coopération cholalo-vibrionienne est suspendue, et la résistance de l'organisme, par suite de cette dyscholie ou acholie, venant à faillir, le vibrion se développera dans un milieu propice. De là, ainsi que nous l'avons montré antérieurement, l'utilité du parfait fonctionnement du foie en temps d'épidémie cholérique.

NOUVELLES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA CÉNUROSE DU LAPIN

par

A. HENRY
Professeur de parasitologie à l'École vétérinaire d'Alfort.

Dr M. CIUCA
Assistant au Laboratoire de médecine expérimentale de la Faculté de Médecine de Bucarest.

(Travail des laboratoires de M. Railliet, à l'École d'Alfort, et de M. Weinberg, à l'Institut Pasteur.)

(Avec les planches II et III.)

De recherches antérieures (1) effectuées par l'un de nous en collaboration avec M. Alexandre Ciuca, sur la cénurose expérimentale du lapin, il résulte, entre autres conclusions, que l'on observe un pourcentage de réactions de fixation positives beaucoup plus élevé chez les animaux infestés expérimentalement que chez ceux qui présentent de la cénurose spontanée. Nous y voyions deux causes : d'abord la multiplicité des kystes toujours nombreux chez les animaux infestés expérimentalement ; d'autre part, il est possible, disions-nous, que les anticorps se forment surtout pendant les premiers moments de l'infestation durant lesquels les parasites ne sont pas encore entourés d'un kyste réactionnel. Or, dans l'infestation artificielle, il y a transport dans l'organisme d'un grand nombre d'hexacanthes, et quoique ceux ci ne poursuivent pas tous leur évolution cystique, il n'en résulte pas moins des phénomènes intenses de réaction qui aboutissent à la production d'une grande quantité d'anticorps.

Il s'agissait évidemment là d'une hypothèse, car il nous manquait la preuve des rapports pouvant exister entre les lésions parasitaires plus ou moins évoluées et les phénomènes réactionnels de l'organisme.

(1) A. Henry et A. Ciuca, Étude expérimentale sur la cénurose du lapin. *Ces Annales*, t. XXVIII, no 4, avril 1914, p. 365.

C'est pour combler cette lacune que nous avons entrepris cette nouvelle série d'expériences.

Nos recherches ont porté sur 22 lapins, auxquels on avait fait ingérer 3 à 5 proglottis de *Tænia serialis* expulsés par un chien infesté lui-même expérimentalement.

Chaque animal fut saigné à deux reprises, à des intervalles de 5 ou 10 jours, et sacrifié après la deuxième saignée. Nous avons pu ainsi effectuer une étude parallèle des lésions et des modifications survenues dans la constitution du sang (éléments figurés, propriétés sérologiques, toxicité).

I. — ÉTUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE

Nous envisagerons successivement l'aspect macroscopique des lésions et leur étude microscopique.

A. — Lésions macroscopiques.

Neuvième jour. — Les plus jeunes lésions ont été observées chez deux lapins sacrifiés au 9e jour de l'infestation (nos 20 et 23).

Chez le premier les lésions sont réparties dans les muscles les plus différents de l'organisme et particulièrement au voisinage de leur surface; ce sont des granulations miliaires blanchâtres pour la plupart entourées d'un cercle hémorragique à contour net; l'aponévrose, nullement intéressée par le processus inflammatoire, reste mobile à leur surface. Quelques-unes de ces lésions se présentent sous la forme de traînées blanchâtres longues de 3 à 4 millimètres, et entourées d'une zone hémorragique.

Un second lapin présente des lésions identiques au premier : pointillé blanchâtre avec auréole hémorragique; elles sont seulement moins nombreuses. Le foie est congestionné avec des suffusions sanguines que l'on rencontre également sous la séreuse pleurale.

Quatorzième jour. — Un seul lapin (no 24) nous a permis de constater les lésions au 14e jour de l'infestation. Sur le diaphragme et sur les muscles de la paroi abdominale se trouvent

de petites granulations blanchâtres, légèrement en relief à la surface des muscles et de la dimension de grains de chènevis ; elles sont entourées d'une zone hémorragique plus accentuée que dans les lésions au 9e jour.

Vers le pôle antérieur du rein gauche, enclavée dans la substance corticale s'observe une petite granulation qui présente tous les caractères macroscopiques des lésions musculaires.

Un fait nouveau s'ajoute ici aux lésions spécifiques; ce sont des lésions générales d'origine évidemment toxique. La totalité du tissu conjonctif sous-cutané, et particulièrement le tissu lâche de la région cervicale, est œdématié et infiltré à tel point que la sérosité s'écoule goutte à goutte après l'enlèvement de la peau. Dans le péritoine on peut recueillir environ 15 cent. cubes de liquide citrin ; du liquide semblable se trouve également en petite quantité dans la plèvre ainsi que dans le péricarde. Le foie, congestionné, rappelle un peu l'aspect du foie cardiaque.

Dix-neuvième jour. — Nous avons pu étudier les lésions au 19e jour sur un lapin (no 27).

Toute la musculature, y compris le diaphragme et le muscle cardiaque, est altérée à tel point qu'aucune incision ne peut être pratiquée sans intéresser au moins une lésion. Ces altérations existent aussi bien dans la profondeur des muscles qu'au voisinage de leur surface; elles sont de dimensions et de forme variables : les unes ont l'aspect de nodules, les autres de traînées dirigées dans le sens des fibres; toutes présentent un centre gris jaunâtre d'aspect purulent, atteignant souvent la taille d'un petit pois et une zone périphérique rouge clair de sang hémolysé. Autour d'un nodule particulièrement développé, logé dans un psoas, s'observe une vaste zone hémorragique formant un placard d'environ 3 cent. 5 de diamètre.

A noter que les nodules logés dans l'épaisseur du muscle cardiaque sont les plus petits observés.

Au centre de chacune des lésions dans la partie caséeuse puriforme, on trouve une petite vésicule sphérique ou légèrement ovoïde, claire, de 1 à 3 millimètres de diamètre. Celles recueillies dans le muscle cardiaque sont nettement oblongues, atteignant 1 millimètre de long sur 300 μ environ de large.

Nous avons recherché si la partie centrale des lésions d'aspect purulent était un abcès provoqué uniquement par le

parasite, ou bien par des germes apportés par lui dans le système musculaire. Les ensemencements pratiqués à cet effet, ainsi que la recherche directe de microbes dans des frottis, ont constamment fourni des résultats négatifs. Nous pouvons donc affirmer que la partie centrale des lésions est un abcès aseptique provoqué par les substances toxiques élaborées par la vésicule parasitaire.

Baillet, dans ses recherches expérimentales (1) destinées à démontrer les liens de parenté du *Tænia serialis* et du *Cœnurus serialis*, a bien décrit au point de vue macroscopique les lésions conjonctivo-musculaires rencontrées à l'autopsie d'animaux morts au 18-19e jour de l'infestation. Voici ce qu'il dit de ces lésions :

« On trouve dans le tissu cellulaire de toutes les régions du corps, sous le péritoine, sous la plèvre costale, entre les muscles des membres, du tronc, du cou, de la tête, des galeries ou des sillons sinueux plus ou moins allongés, généralement effilés et très grêles à l'une des extrémités ; tandis qu'ils sont renflés à l'autre bout, au point d'avoir une largeur de 1 ou 2 millimètres, ou même quelquefois davantage. Plusieurs de ces traces sinueuses, en petit nombre d'ailleurs, sont formées de tours rapprochés et presque confondus. Toutes ont leur trajet rempli d'une matière pulpeuse, grasse, onctueuse au toucher, d'un blanc jaunâtre très pâle, qui tranche nettement sur le fond rougeâtre que forme autour d'elles du sang épanché en petite quantité et coagulé dans le tissu cellulaire. Dans chaque sillon il existe au milieu de la matière pulpeuse une vésicule ovoïde ou sphéroïde, à parois transparentes et remplies d'un liquide parfaitement limpide. »

Chez deux lapins (nos 30 et 32), nous n'avons trouvé comme lésion que de très rares points blanchâtres dans l'épaisseur du diaphragme. Chez le no 30, ces lésions spécifiques étaient accompagnées de lésions générales toxiques, se traduisant par un œdème conjonctif généralisé semblable à celui observé chez le lapin no 24 (14e jour), et par un pointillé hémorragique dans les muscles.

(1) C. Baillet, Recherches sur un cystique polycéphale du lapin et sur le ver qui résulte de sa transformation dans l'intestin du chien. *Mémoires de l'Académie imp. des Sciences de Toulouse* ; VIe série, t. I, p. 461-462.

L'œdème toxique accompagnant un pointillé hémorragique a été constaté également chez le lapin n° 31 (26e jour).

Chez un porteur d'un vieux cénure (lapin n° 25) le péritoine contenait un exsudat séreux (5 cent. cubes environ) remarquable par ses propriétés antigéniques.

B. — Lésions histologiques (1).

Au point de vue microscopique, il est possible de distinguer plusieurs types de lésions conjonctivo-musculaires, suivant que les parasites développés aux dépens des hexacanthes évoluent normalement, ou bien subissent plus ou moins tôt une involution qui se traduit par leur dégénérescence et aboutit à leur disparition.

Pour mieux comprendre et plus facilement interpréter les lésions, nous commencerons par la description des nodules les plus volumineux, dans lesquels se trouve une vésicule parfaitement vivante et en voie de développement; ce sont ceux que nous avons observés surtout chez le lapin n° 27 (19e jour).

Sur les coupes examinées à l'œil nu, les nodules inflammatoires se présentent comme des taches bleues, longues de 6 à 7 millimètres, larges de 2 à 3 millimètres; vers l'un de leurs pôles se trouve un espace clair, allongé, de 2 millimètres sur 1 millimètre environ, qui n'est autre que la jeune larve (fig. 1, *a*).

Parasite. — Quoique étant complètement enclavé dans un foyer inflammatoire des plus intenses, le jeune parasite ne paraît nullement touché par le processus morbide.

A un grossissement moyen, on lui reconnaît aisément trois couches distinctes : 1° l'externe, représentant la cuticule, est colorée en rose et crénelée à la surface; 2° la face interne de cette paroi est tapissée par une couche de cellules serrées, à noyau foncé, à protoplasma peu abondant, ce qui lui donne un aspect granuleux bleu foncé; 3° enfin on voit se détacher de cette couche des cellules beaucoup plus riches en protoplasma très clair et à noyau plus ou moins allongé. Ces cellules sont

(1) *Technique* : *Fixation* au mélange de Duboscq-Brasil, 24 heures; *Inclusion* à la paraffine; *Coloration* à l'hémalun-éosine-safran, suivant la méthode de P. Masson.

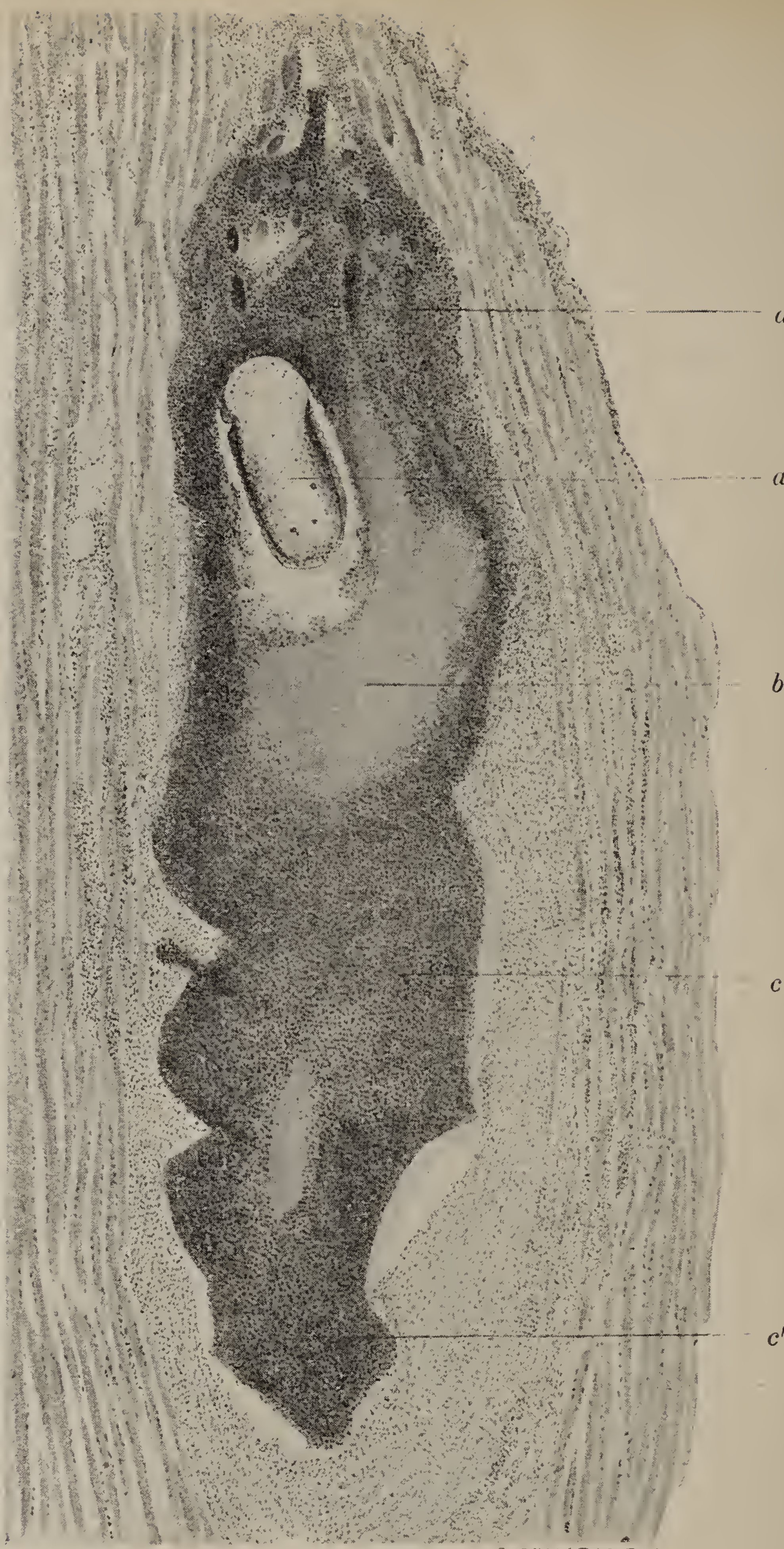


Fig. 1. — Coupe histologique de muscle parasité. Grossissement 25/1. On voit que la lésion s'est développée dans l'épaisseur même du muscle et dans le sens des fibres musculaires Dans la partie supérieure du nodule inflammatoire, on trouve en *a* un jeune cénure en voie d'évolution. La larve est entourée immédiatement par un énorme placard nécrotique (*b*), dans lequel on ne reconnaît plus d'éléments cellulaires. Une vaste zone (*c*) d'infiltration inflammatoire enveloppe ce placard nécrotique et dissocie aux deux pôles du nodule les fibres musculaires striées; *c'*, *d* — apophyses épineuses.

presque toutes vésiculeuses et constituent un réseau assez délicat.

La lumière ou cavité du parasite est creusée dans cette zone interne par déchirure des éléments cellulaires que l'on retrouve flottant à la périphérie sous l'aspect de filaments de longueur variable. On observe dans cette zone effilochée un grand nombre de petites sphérules uniformément colorées en rouge clair par l'éosine. Il faut sans doute considérer ces formations comme des produits de sécrétion des cellules claires de la zone interne. La cavité, elle-même, ne renferme, comme éléments morphologiques, que des corpuscules brillants qu'on trouve chez presque tous les jeunes Cestodes. Quelquefois ces corps brillants sont mêlés à des amas pigmentaires amorphes d'un jaune ocre.

A un très fort grossissement (obj. 8, immersion), la cuticule présente elle-même aux deux pôles du parasite trois zones distinctes : une zone interne, transparente, claire; une zone moyenne foncée; une zone externe plus claire que la moyenne et plus foncée que l'interne. Cette dernière zone doit son opacité à la présence de granulations très fines brunâtres.

Au fur et à mesure qu'on s'approche de la région équatoriale du parasite, la cuticule change d'aspect, modifie ses différentes parties consécutives : la zone interne devient un peu plus foncée et on y voit apparaître des épaississements qui se disposent parallèlement à la surface. En même temps, la zone moyenne augmente graduellement de largeur, se plisse et prend l'aspect crénelé déjà observable au faible grossissement. Enfin, la couche externe s'éclaircit et se présente sous forme d'un voile rose qui n'occupe plus que le fond des crénelures de la zone moyenne. A ce même fort grossissement, on constate que la couche sous-cuticulaire présente des cellules beaucoup moins tassées vers les pôles du parasite qu'à l'équateur; on observe aussi très facilement la transformation et l'évolution des cellules de la périphérie vers la profondeur; d'abord fortement tassées, à contour irrégulier, ces cellules deviennent fusiformes ou même étoilées, leur protoplasma d'abord foncé, s'éclaircit et sécrète les petites sphérules dont il a déjà été question; ces boulettes, de toutes dimensions, sont tantôt très opaques, tantôt plus transparentes, laissant voir à leur inté-

rieur une poussière de fines granulations rosées. A côté de ces sphérules, on trouve à la limite de la cavité centrale des taches granuleuses qui ne sont probablement que des boules désagrégées.

Zone inflammatoire. — Comme nous l'avons dit précédemment, les parasites se trouvent enclavés dans un énorme placard

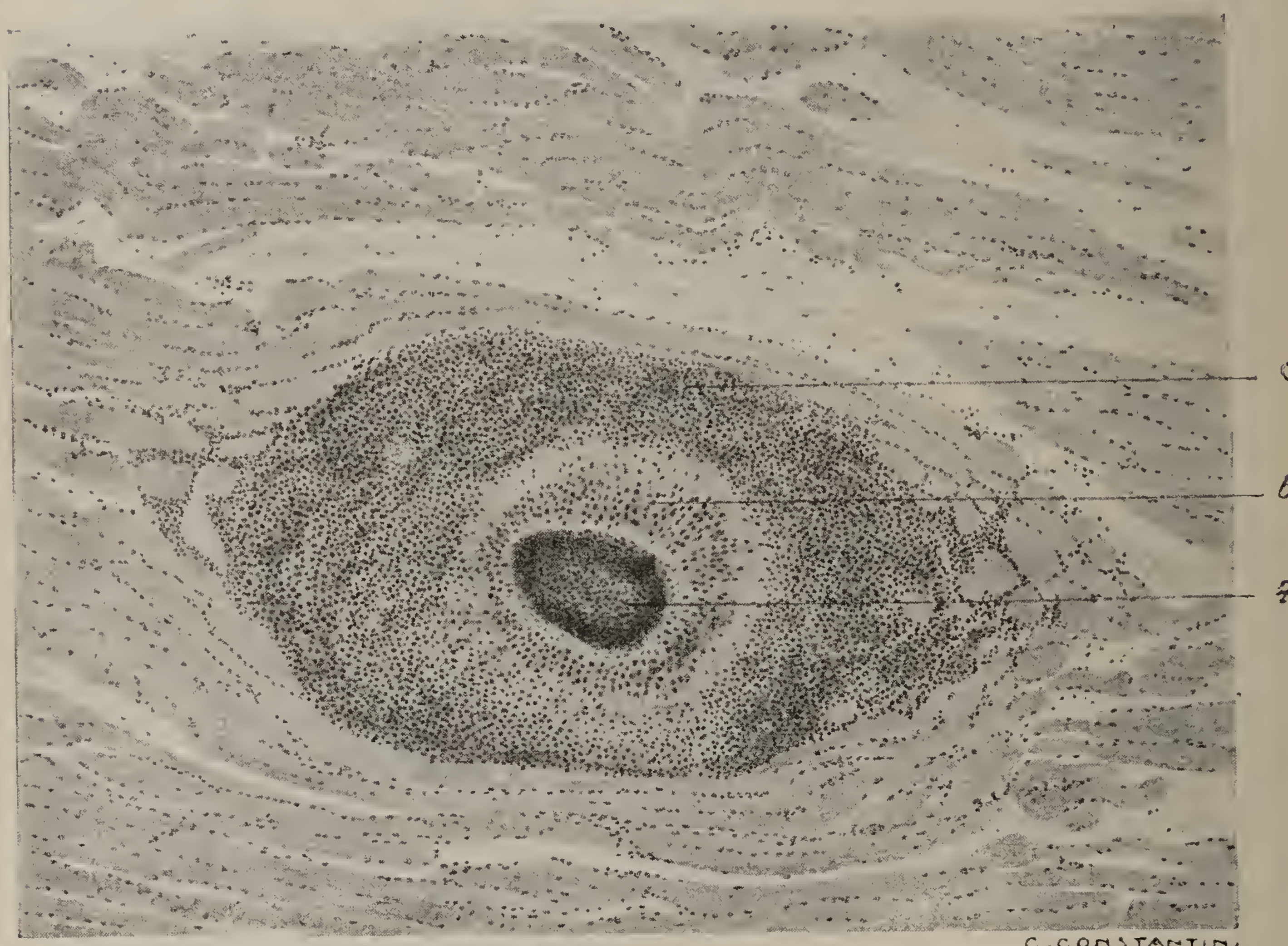


Fig. 2. — Coupe histologique de muscle au 14e jour de l'infestation. La lésion se présente à un faible grossissement sous forme de cocarde. La zone centrale *a* représente un amas de leucocytes et de cellules cénuriennes qu'on trouve à la place d'une larve désagrégée. En *b*, on voit la zone moyenne, claire cicatricielle; *c* — zone périphérique d'infiltration inflammatoire. On voit que les faisceaux musculaires au voisinage du nodule parasitaire ne sont presque pas dissociés par des leucocytes.

inflammatoire; celui-ci présente au faible grossissement deux zones distinctes : une zone interne, d'un rose foncé, et une zone externe d'un bleu foncé.

A un fort grossissement, on constate que la coloration rose uniforme de la zone interne est due à la dégénérescence massive de tous les éléments inflammatoires situés dans cette région. Ces éléments nécrosés ont perdu leur forme caracté-

ristique; un piqueté bleuâtre représente les restes des noyaux dégénérés. Par place on observe encore quelques éléments dont le protoplasma commence à se nécroser.

La zone externe, bleue, est formée exclusivement par des cellules inflammatoires, pour la plupart, des mononucléaires. Ces cellules sont tellement entassées qu'on reconnaît difficile-

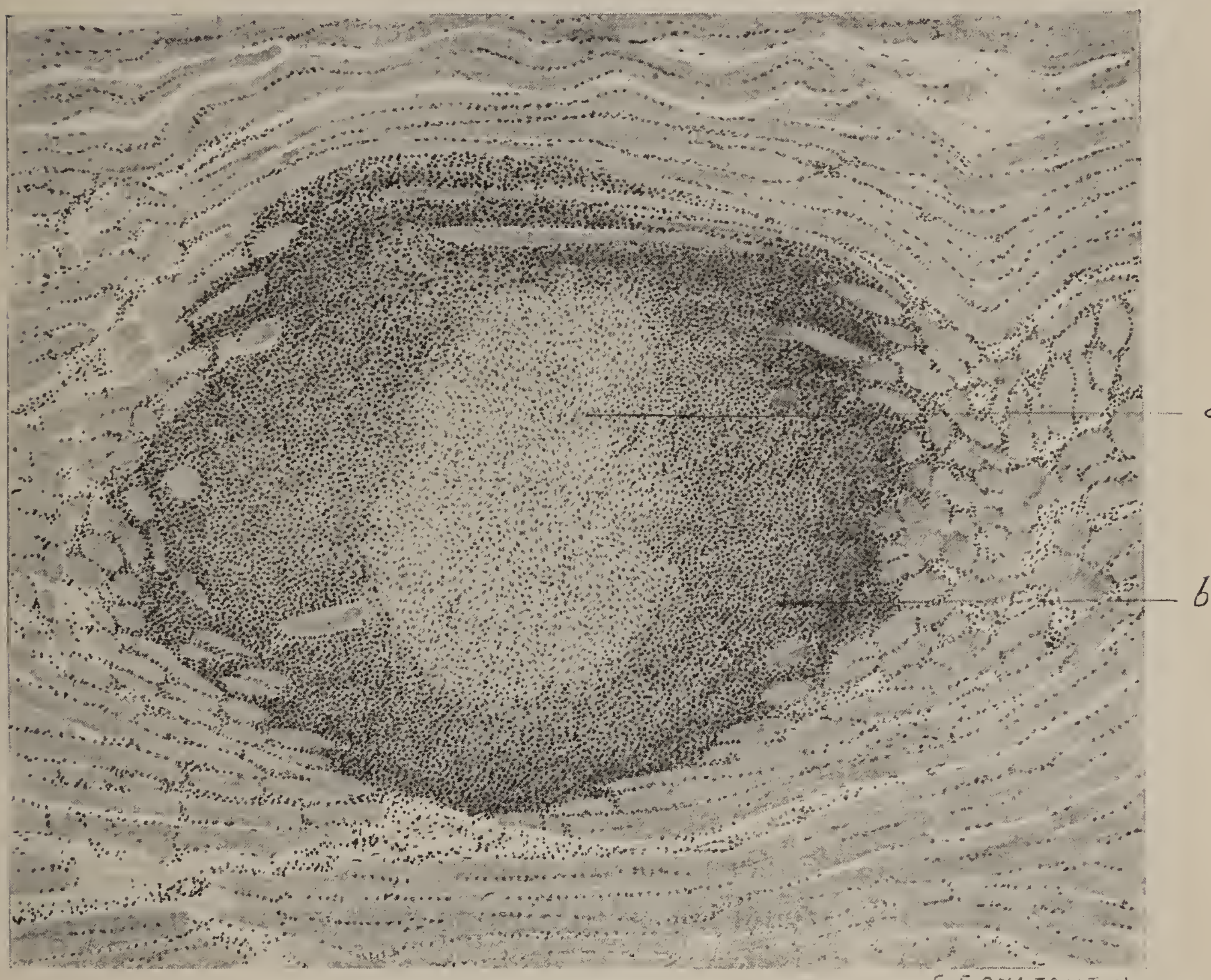


Fig. 3. — Stade plus avancé d'une lésion semblable à celle représentée dans la fig. 2. Ici le parasite a complètement disparu. Le centre est occupé par un vaste placard cicatriciel représenté en *a*. En *b*, zone périphérique d'infiltration inflammatoire. La partie interne de cette zone s'éclaircit, ce qui indique la progression du processus de cicatrisation qui s'étend de la zone centrale vers la périphérie.

ment de place en place les restes des fibres musculaires enserrées dans la zone inflammatoire.

Zone périphérique. — Tout ce nodule parasitaire s'est développé dans l'épaisseur du muscle. Sur une coupe parallèle à la direction des fibres musculaires, on se rend compte de l'infiltration considérable qui dissocie les fibres musculaires situées au voisinage de la lésion principale.

Dans cette région on peut très bien étudier la nature des éléments inflammatoires et confirmer que ces éléments sont pour la plupart des mononucléaires. On trouve cependant aussi des polynucléaires neutrophiles. Les mononucléaires, pour la plupart vésiculeux, montrent dans leur protoplasma un nombre plus ou moins grand de grains pigmentaires. Cette pigmentophagie s'explique par la présence dans le placard inflammatoire et surtout à sa partie périphérique de petits foyers hémorragiques. On trouve également un grand nombre de globules rouges parsemés dans la zone externe de la lésion. Les vaisseaux qui se trouvent dans le voisinage sont gorgés de sang riche en mononucléaires. Les fibres musculaires, dissociées par des éléments inflammatoires, subissent des altérations profondes. Au début du processus pathologique, on assiste à une désagrégation des fibrilles primitives qui se transforment en poussière de granulations roses. Lorsque la fibre musculaire éclate, ces granulations sont mises en liberté, ce qui pourrait faire penser à un écrasement sur place de leucocytes éosinophiles dû à un accident de technique. Il existe peu de processus pathologiques où on constate comme ici des lésions aussi considérables et aussi variées de la fibre musculaire. On trouve toute la gamme des altérations de ces éléments, depuis une simple irritation, caractérisée surtout par la prolifération des noyaux, jusqu'à la désintégration complète des fibres nécrosées. Souvent de nombreuses fibres sont nécrosées en masse. Ces blocs d'éléments ayant perdu toute structure cellulaire se fissurent, prennent un aspect fenêtré et finissent par se disloquer par petits morceaux entièrement englobés par d'énormes cellules géantes.

Dans certains nodules on ne trouve plus de parasite au milieu du foyer inflammatoire. Ces formations, qui manquent en général de zone nécrosante, marquent évidemment la place de parasites détruits tout à fait au début de leur évolution.

Particulièrement intéressantes sont les lésions qu'on trouve à l'autopsie du lapin n° 24. La zone centrale est formée exclusivement par des masses de cellules à protoplasma nécrosé d'un aurantia uniforme et à noyau en pleine picnose. Nous avons tout lieu de croire que cette zone centrale n'est autre que le parasite ayant subi la dégénérescence complète et remplacé

par un amas de cellules composé en partie de ses éléments propres et surtout des leucocytes qui ont subi une nécrose sur place (fig. 2, *a*).

Dans la zone externe, on trouve une infiltration considérable d'éosinophiles, ce qui prouve qu'il s'agit de lésions en voie de cicatrisation ; on voit également une légère infiltration dans le tissu conjonctif interfasciculaire qui entoure la lésion.

D'autres nodules parasitaires observés dans ce même cas ne renferment plus la zone centrale correspondant au parasite dégénéré; ce dernier est complètement résorbé et remplacé par un tissu cicatriciel qui se confond avec le tissu conjonctif de nouvelle formation (fig. 3, *a*).

Des lésions intermédiaires entre les deux dernières que nous venons de décrire se trouvent chez le lapin n° 20 : le centre des nodules est occupé par une masse nécrotique d'un aurantia foncé et dans laquelle on ne reconnaît plus de cellules; tous les éléments sont complètement dégénérés, leur noyau n'a plus de réaction colorante. Cette masse nécrosée commence à être envahie par des cellules conjonctives venues de la périphérie.

Parmi les lésions en voie de guérison, on en trouve chez lesquelles on ne reconnaît plus aucun élément cellulaire; il existe une simple masse nécrotique qui représente le parasite détruit.

Lésions viscérales. — Chez les animaux sacrifiés au 9e jour de l'infestation on ne trouve aucune lésion des organes (lapin n° 20), ou une simple congestion des viscères, surtout du foie et de la rate. Dans ces organes ainsi que dans les ganglions mésentériques, nous avons constaté un grand nombre de pigmentophages (lapin n° 23).

Ces lésions sont plus accentuées au 14e jour (lapin n° 24). On constate que la rate est très congestionnée; les travées conjonctives sont à peine reconnaissables; les follicules sont dissociés par des extravasats sanguins. Dans la substance corticale du rein gauche se trouve un nodule inflammatoire à centre clair occupé par des cellules dégénérées dont le protoplasma est nécrosé et le noyau se colore à peine; la zone périphérique de coloration bleue présente des mononucléaires et beaucoup d'éosinophiles. Les tubes contournés du voisinage sont dissociés; leurs cellules en dégénérescence trouble. Dans

les capillaires, bourrés de mononucléaires, on voit également des éosinophiles. On ne trouve plus trace du parasite cause du nodule. Aucune autre lésion dans le reste du parenchyme rénal.

II. — ÉTUDE SÉROLOGIQUE

Pour mieux nous rendre compte des rapports qui existent entre la marche des lésions et les modifications survenues dans la constitution du sang, nous avons procédé dans tous les cas à un examen hématologique complet. Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau ci-après.

L'éosinophilie sanguine existe constamment chez les animaux porteurs de kystes anciens par infestation spontanée remontant de 3 à 5 mois. Chez les sujets porteurs de lésions jeunes franchement évolutives (n°s 24 et 27) on constate que l'éosinophilie sanguine coïncide avec une forte réaction locale à éosinophiles. Ces faits confirment les données dernièrement publiées par MM. Weinberg et Seguin.

Anticorps lytiques. — Pour la réaction de fixation, nous nous sommes servi comme antigène (antig. 13) du liquide d'un gros cénure, du volume de 250 cent. cubes environ, trouvé dans l'abdomen d'un lapin infesté onze mois avant et qui était porteur de huit autre kystes cénuriens. Les propriétés antigéniques de ce liquide ont été établies en présence de son propre sérum et de deux sérums de lapins sûrement fixateurs. Chaque sérum a été étudié au point de vue des réactions de groupe, en employant comme antigène du liquide échinococcique et du liquide de Cysticerque tenuicol. Voici les résultats obtenus : fixation nulle dans les cas n°s 23, 24 et 27, où il existait des lésions évolutives datant de 9 à 15 jours; ce sont précisément des lapins dont les lésions ont été décrites plus haut.

Parmi les cas à réaction positive, il faut considérer trois catégories d'animaux. Dans une première catégorie se classe le lapin n° 20 porteur de lésions marquées, assez rares et pour la plupart en voie de guérison; le sérum de ce lapin donne une forte fixation du complément.

La deuxième catégorie comprend les lapins n°s 30 et 31 chez lesquels nous n'avons trouvé comme lésion qu'un œdème géné-

LAPINS nos	EXAMEN du sang pratiqué au bout de	ÉOSINOPHILIE	TOXICITÉ du sérum	RÉACTION de fixation	RÉACTION des précipitines	RÉACTION de fixation de groupe	RÉACTION des précipitines de groupe	ANAPHYLAXIE passive	PARTICULARITÉS ANATOMIQUES et SÉROLOGIQUES
21	5 jours	0	augmentée	0	0	0	0	....	Pas de lésions.
9	5 jours	0	augmentée	0	0	0	0	....	Pas de lésions.
20	9 jours	0	augmentée	+	0	0	0	....	Lésions du 1er degré.
23	9 jours	0	augmentée	0	0	0	0	....	Lésions du 1er degré.
32	9 jours	0	augmentée	+	0	0	0	....	Lésions insignifiantes.
33	9 jours	0	normale	0	0	0	0	....	Pas de lésions.
34 (1re saig.).	9 jours	12 0/0	normale	0	0	0	0	+	Sans autopsie. Trouvé ultérieurement *porteur de kyste ancien*.
24	14 jours	18 0/0	augmentée	0	0	0	0	0	Lésions du 2e degré.
25	14 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Sans autopsie.
34 (2e saig.).	14 jours	8 0/0	normale	+	+	0	0	+	Fixation posit. avec son propre ant., négat. avec antig. 13. Sans autop. Trouvé ult. port. de kyste.
35 (1re saig.).	14 jours	9,5 0/0	normale	0	0	0	0	0	Fixation négative. Antigènes 13 et 34.
36 (1re saig.).	14 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Sans autopsie.
26	19 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Pas de lésions.
27	19 jours	14,5 0/0	augmentée	0	0	0	0	0	Lésions du 3e degré.
36 (2e saig.).	19 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Pas de lésions.
37 (1re saig.).	19 jours	15 0/0	normale	+	+	+	0	0	Fixation positive avec ant. 13, négat. ant. 24; légère avec hydatique et ténuicolis.
35 (2e saig.).	19 jours	12 0/0	normale	+	0	0	0	0	Fixation positive avec son propre antigène, négative avec antigènes 13 et 34.
28	25 jours	0	normale	+	0	0	0	0	Pas de lésions.
29	25 jours	0	normale	+	0	0	0	0	Pas de lésions.
30	26 jours	0	normale	+	0	0	0	0	Lésions muscul. insignifiantes; œdème général.
31	26 jours	0	normale	+	0	0	0	0	Lésions muscul. insignifiantes; œdème général.
39 (1re saig.).	26 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Sans autopsie. Pas de lésions à la 2e saignée.
40 (1re saig.).	26 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Sans autopsie.
37 (2e saig.).	27 jours	16,5 0/0	normale	+	+	0	0	0	Lés. anc. Fixat. posit. avec ant. 21 et son propre ant.
39 (2e saig.)	35 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Pas de lésions.
40 (2e saig.).	35 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Pas de lésions.
41	35 jours	0	normale	0	0	0	0	0	Pas de lésions.
25	Trouvé infesté.	22 0/0	normale	0	+	0	0	0	Porteur de kyste ancien. Fixation positive antigènes 13, 34 et 37, négative avec son propre antigène.

ralisé accompagné, chez le lapin n° 30, d'un pointillé hémorragique intramusculaire et de très rares points blanchâtres sous-séreux.

Enfin, dans la troisième catégorie, il faut considérer les cas n°s 28, 29 et 32, infestés 25 jours avant, et qui, tout en ne présentant aucune lésion, donnent une fixation positive avec les antigènes n°s 13, 34 et 35. Tous ces sérums ont été étudiés très minutieusement au point de vue de leur action anticomplémentaire et de leur pouvoir fixateur non seulement vis-à-vis de trois liquides de C. sérial, mais encore d'un liquide échinococcique et d'un liquide de C. tenuicol. La fixation spécifique a été plus forte chez le lapin n° 32 (9e jour) que chez les lapins n°s 28 et 29 (25e jour).

D'après ce que nous venons de voir, il y a donc présence d'anticorps spécifiques lytiques dans le sérum de lapins infestés artificiellement, et à l'autopsie desquels on ne trouve pas de lésions apparentes. Comment expliquer leur présence si ce n'est par la formation précoce, peut-être même dès l'arrivée de l'hexacanthe dans les muscles, de substances toxiques entraînant la production d'anticorps; anticorps qui persistent, bien entendu, plus ou moins longtemps après la destruction des jeunes parasites. La production de substances toxiques énergiques est d'ailleurs affirmée par la présence de l'œdème cellulaire et des congestions viscérales coïncidant parfois avec des lésions avortées.

Précipitines. — Nous n'avons trouvé de précipitines que chez trois lapins sur quatre porteurs de cénures anciens (3 à 5 mois).

Anticorps anaphylactiques. — Pour mettre en évidence les anticorps anaphylactiques, nous avons préparé nos cobayes en leur injectant dans le péritoine des quantités variables de sérum de porteurs de cénures : 2 à 4 cent. cubes. Quarante-huit heures après, ils recevaient 4 cent. cubes de liquide de Cénure sérial dans la veine (la dose mortelle est de 10 à 12 cent. cubes). Nous n'avons obtenu de phénomènes anaphylactiques que chez le lapin n° 34 porteur de lésions anciennes de 4 mois.

La sensibilisation des cobayes pour l'anaphylaxie passive nous a donné le moyen d'étudier la toxicité du sérum des lapins infestés, comparativement avec celle de sérums normaux récoltés en même temps chez des sujets témoins. En dehors

des injections intrapéritonéales, nous avons utilisé la voie intraveineuse pour les sérums qui donnaient des résultats douteux ou moins nets.

En procédant de cette manière, nous avons constaté une toxicité augmentée au début de l'infestation. Une injection intrapéritonéale de 6 cent. cubes de sérum, prélevé la veille (24 heures), provoque chez le cobaye des phénomènes toxiques graves, semblables aux phénomènes anaphylactiques : dyspnée, hérissement des poils, soubresauts, démangeaisons de la peau et des muqueuses, parésie du train postérieur. Le sérum des lapins n°s 20, 21, 22, 23, 24, 27 et 32 (du 5e au 19e jour) donnait constamment de ces phénomènes toxiques. Particulièrement graves ont été les symptômes qui ont suivi l'injection du sérum des lapins n°s 24 et 27; tous les cobayes qui avaient reçu 4 à 6 cent. cubes de ces sérums dans le péritoine ou 3 cent. cubes dans la veine, sont restés 8 heures couchés sur le flanc ; 15 p. 100 ont été trouvés morts 12 heures après. Les cobayes témoins à qui on avait injecté une dose double (et jusqu'à 12 cent. cubes) de sérum normal récolté dans les mêmes conditions, n'ont présenté aucun phénomène toxique. Les animaux qui ont survécu n'ont montré aucun symptôme après l'injection déchaînante faite 48 heures après.

On ne trouve plus de sérums toxiques passé le 19e jour de l'infestation. Le sérum des lapins porteurs d'anciens cénures n'est pas plus toxique que le sérum normal.

Un fait intéressant qui se dégage de cette étude sérologique, est que dans certains cas (2 fois sur 5), les anticorps apparaissent déjà 9 jours après l'infestation. Cette apparition précoce peut être comparée avec les faits recueillis par quelques auteurs chez des malades opérés de kyste hydatique; en général, les anticorps hydatiques n'apparaissent qu'une quinzaine de jours après l'opération; cependant, il y a des cas où ces anticorps étaient décelables au 4e, 6e ou 8e jour après l'opération.

Sur quatre lapins saignés dix-neuf jours après l'infestation, c'est-à-dire dans les délais nécessaires à la formation des anticorps, chez deux la réaction négative a coïncidé avec l'absence de lésions ; le troisième, chez lequel il existait en même temps un kyste ancien, a donné une réaction positive; enfin, le qua-

trième a donné une réaction négative, bien que tous ses muscles fussent criblés de lésions parasitaires. Nous pensons qu'il faut expliquer ce résultat négatif par la quantité considérable d'antigène résorbé par l'organisme, quantité telle qu'elle a dû paralyser l'action des organes producteurs d'anticorps. Cette hypothèse est appuyée par ce fait que c'est justement le sérum de ce lapin qui s'est montré le plus toxique.

Le sérum des lapins a donné une réaction positive 25-26 jours après l'infestation, dans tous les cas où nous avons trouvé des lésions parasitaires.

Il nous reste à expliquer la présence d'anticorps anaphylactiques dans le sérum du lapin n° 34 qui a donné d'autre part une réaction de fixation négative. On ne peut le faire qu'en supposant que l'antigène avait cessé d'être résorbé depuis un certain temps et que les anticorps formés précédemment persistent plus longtemps dans l'organisme pour les anticorps anaphylactiques que pour les anticorps lytiques.

Conclusions.

1° Les cénures se fixent non seulement dans le système musculaire général, mais aussi dans l'épaisseur du cœur ;

2° La notion la plus importante qui se dégage de l'étude histo-bactériologique des nodules inflammatoires est que les parasites sécrètent, dès le début de leur développement, un produit toxique qui nécrose les tissus placés immédiatement autour d'eux ;

3° Lorsque les jeunes larves subissent l'involution, elles se désagrègent et sont remplacées par du tissu cicatriciel. La guérison du nodule inflammatoire parasitaire débute à la fois par la désintégration du parasite et la disparition de l'infiltration périphérique ;

4° Quelquefois, on observe des lésions toxiques à distance, comme de l'œdème généralisé du tissu conjonctif sous-cutané et des séreuses, surtout du péritoine ;

5° Les anticorps cénuriens apparaissent en général du 19e au 25e jour de l'infestation ; exceptionnellement, cette apparition est plus précoce (9e jour) ;

6° Il est possible de trouver un sérum riche en anticorps





cénuriens chez des animaux infestés qui ne présentent pas de lésions; il s'agit dans ces cas de cénurose avortée ;

7° Dans les cas d'intoxication intense, les anticorps spécifiques peuvent faire défaut;

8° Le sérum des lapins infestés d'une façon massive devient très toxique pour le cobaye.

PLANCHES II ET III

Planche II. — Épaule de lapin au 19e jour de l'infestation. On voit en *a* une masse caséeuse (colorée en jaune sur la pièce fraîche) renfermant une larve de cénure; une zone hémorragique (*b*) étendue et à contours irréguliers entoure la zone caséeuse; de même en *a′* et *b*, *c*, *c′* — lésions plus récentes, plus discrètes, mais sur la coupe desquelles on trouve toujours une jeune larve.

Planche III. — Masse musculaire dorsale du même lapin. On voit ici les mêmes lésions, mais se présentant avec des caractères encore plus nets.

RECHERCHES
SUR LE VENIN DE *CROTALUS ADAMANTEUS*

par J. CAMUS, E. CÉSARI et C. JOUAN.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE ANATOMO-CLINIQUE

Les recherches que nous avons entreprises sur le venin de *Crotalus adamanteus* comprennent, tout d'abord, une étude anatomo-clinique destinée à compléter les descriptions des auteurs, descriptions vraiment trop succinctes.

Toutes les expériences qui vont être rapportées ici, jusqu'au dernier chapitre, ont été faites avec un venin *très pur*, dû à l'obligeance de M. le professeur S. Flexner. Nous dirons, en terminant, quelques mots d'un échantillon, « moins beau d'aspect » et doué de propriétés un peu différentes, qui nous a été également donné par le savant directeur de l'Institut Rockefeller.

Notre travail se divise en *trois parties* : *recherches sur les lapins*, *recherches sur les cobayes*, *caractères du venin le moins pur.*

Recherches sur les lapins.

Nous étudierons, successivement, les *injections intraveineuses*, *sous-cutanées* et *intrarachidiennes.* Nous nous sommes constamment servis d'animaux de 2.000 grammes.

Injections intraveineuses.

2 milligrammes tuent en quelques minutes; 1,5 à 1 milligramme, en 1/2 heure à 1 h. 1/2 ; 0,75 à 0,50 milligramme, en 3 à 6 heures; 0,25 milligramme (dose limitée), en 12 à

24 heures, *ou pas du tout*; 0,125 milligramme ne déterminent qu'une incoagulabilité temporaire du sang.

Influence du chauffage. — 1/2 heure à 55 degrés : toxicité intacte; 1/2 h. à 65 degrés : 1 milligramme tue en 13 jours, sans phénomènes spéciaux; 1/2 h. à 75 degrés : 1 milligramme demeure inoffensif.

Nous décrirons les *types schématiques*, selon que la mort survient en quelques minutes, 1/2 heure, 1 h. 1/2, quelques jours (dans ce dernier type, la mort n'est pas constante).

Mort en quelques minutes. — Après une minute environ : respiration saccadée ou intermittente ; quelquefois, cris et convulsions. Puis, myosis, exorbitis, chute sur le côté, soif d'air. Enfin, perte du réflexe cornéen et arrêt respiratoire (pupilles dilatées ou non).

A l'autopsie. — Le cœur bat rapidement (dissociation auriculo-ventriculaire), puis lentement et s'arrête après quelques minutes. Foie et veines abdominales gorgés de sang. Intestins plus ou moins congestionnés. Poumons exsangues. Quelquefois, sang dans le péritoine. Caillots, ou non, dans le cœur; quelquefois, ecchymoses sous l'endocarde gauche. Sang incoagulable, plasma rosé.

Mort en 1/2 heure. — Après l'injection : agitation légère, quelquefois; puis, immobilité, hébétude, parfois état parétique transitoire des membres postérieurs. Ensuite, dyspnée et myosis (rapidement total): miction plus ou moins abondante, suivie d'écoulement goutte à goutte; congestion des muqueuses apparentes et des vaisseaux de l'oreille (au point injecté, hémorragie marquée); après 1/4 d'heure, environ, il peut y avoir hématurie. Ultérieurement, pâleur des muqueuses et de l'oreille ; dilatation progressive de la pupille (mydriase accentuée) ; chute sur le côté, narcose (avec respiration régulière), que les excitations interrompent, mais qui reprend presque aussitôt. Enfin, respiration intermittente, quelques convulsions, perte du réflexe cornéen, arrêt respiratoire.

A l'autopsie. — Le cœur bat faiblement. Pétéchies très nombreuses, dans les muscles du tronc et des membres. Congestion de l'intestin (intestin grêle souvent lie de vin ou ardoisé); hémorragies sous forme de piqueté, zébrures ou nappes, pouvant se rencontrer sur les points où l'intestin n'est pas congestionné. Vessie souvent remplie de sang, de même que les uretères, qui ressemblent à des veines; ecchymoses fréquentes de la paroi vésicale. Congestion, avec ou sans hémorragies, sur l'épididyme et les trompes. Foie congestionné ou non; de même pour l'estomac, la rate, les reins (hémorragie du bassinet, quand il y a eu hématurie *in vivo*). Souvent hémorragies sur le diaphragme, poumons exsangues ; parfois épanchement sanglant ou rosé dans le péritoine. Cœur dur et tendu à gauche, flasque et mou à droite, hémorragie sur l'épicarde et l'endocarde (plus nombreuses et plus étendues à gauche); sang incoagulable, plasma rosé. Anémie des centres nerveux.

Mort en 1 h. 1/2. — Mêmes phénomènes initiaux que précédemment (congestion de la peau et des muqueuses, myosis, miction et *défécation*; suivis de mydriase, pâleur...). Puis, narcose, moins profonde ici (demi-somnolence, entrecoupée de réveils fréquents). Peu avant la mort, intermittences respiratoires, avec mouvements de course.

A l'autopsie. — *Ut supra* « en gros ». Hémorragies musculaires et viscérales, excessivement prononcées. Quelquefois pétéchies pulmonaires, souvent sang dans le péricarde. Congestion hémorragique du mésentère et de l'épiploon. Sang incoagulable, plasma *clair.*

Mêmes phénomènes, quand la mort arrive en 3-6 heures ; hémorragies *formidables* ici (quelquefois véritable ramollissement hémorragique du duodénum).

MORT TARDIVE OU GUÉRISON. — *Mort tardive.* Phénomènes initiaux plus ou moins marqués et suivis de guérison apparente. Puis, émaciation croissante ou mort rapide (coma, troubles respiratoires). Pétéchies épicardiques, quelquefois nécrose hépatique, souvent reins jaunes ; pas d'autres lésions.

GUÉRISON. — Phénomènes initiaux d'intensité variable. Émaciation plus ou moins forte. Incoagulabilité transitoire du sang.

Injections sous-cutanées.

Limite mortelle comprise entre 0,25 et 0,50 milligramme ; de 0,50 à 2 milligrammes, la durée de la survie est avant tout affaire de résistance individuelle, mais la mort ne survient jamais avant une vingtaine d'heures. *Bien distinguer entre la mort par l'envenimation et la mort par les complications infectieuses.*

Influence du chauffage. — 1/2 heure à 55 degrés : toxicité conservée ; 1/2 heure à 65 degrés : 1 milligramme ne tue jamais, mais détermine une eschare marquée ; 1/2 heure à 75 degrés : 1 milligramme ne détermine qu'un œdème transitoire, avec teinte rosée de la peau.

Nous décrirons *trois types schématiques* : cas mortels, eschare humide hémorragique, « type V » (1).

CAS MORTELS. — Rarement la mort survient après plus de 3 jours.

Dans la journée. — Œdème mou, qui devient volumineux et peut atteindre les dimensions d'un poing d'enfant. Suintement par l'orifice de l'aiguille, tache de couleur variée : violette, ou verdâtre, puis violette, ou mélangée. Toujours étendue ; peut correspondre à l'étendue de l'empâtement lui-même. Habituellement, recouverte d'érosions acajou, très humides.

Le lendemain (quand l'animal survit). — Œdème stationnaire toujours mou, tache brun violet ou violet noir. Érosions constantes, souvent très étendues, rouge brun sale ou verdâtres, quelquefois noires par endroits.

Jusqu'à la mort. — Les modifications locales n'offrent rien de régulier.

Phénomènes généraux. — Affaissement plus ou moins rapide, émaciation, troubles respiratoires ultimes.

A l'autopsie. — Localement, infiltration hémorragique très étendue, avec

(1) Voir N. NICOLLE et E. CESARI, Ces *Annales*, mai 1914.

sérosité sanglante. Quand la mort est survenue en un jour au plus : hémorragies musculaires, intestinales, épicardiques. Quand la mort est survenue en deux jours et demi au plus : hémorragies épicardiques seules. Quand la mort est plus tardive : reins jaunes, simplement.

Escarre humide hémorragique. — (0,50 milligramme de venin, chauffé ou non à 55 degrés. 1 milligramme de venin chauffé à 65 degrés.)

Mêmes lésions locales que précédemment; cependant, l'escarrification l'emporte ici sur l'hémorragie.

Le lendemain, tache généralement verdâtre et bien humide; elle brunit ensuite, tandis que l'empâtement se réduit et s'aplatit en s'indurant. Puis, chute de l'escarre, devenue noire, et mise à nu d'un ulcus, qui se cicatrise régulièrement quand ne surviennent pas de *complications*. Celles-ci retardent la guérison ou même entraînent la mort (histoire bien connue des « microbes de sortie », notamment du *pneumocoque* et de la *pasteurella*).

« Type V ». — (0,25 milligramme de venin, chauffé ou non à 55 degrés. 0,5 milligramme de venin chauffé à 65 degrés).

Dans la journée. — Œdème mou (noir, œuf de pigeon); tache violette (2 francs en moyenne). *Le lendemain*, œdème stationnaire, tache plus foncée, quelquefois luisante. Puis, la tache brunit, noircit (escarre), l'empâtement forme un disque dur et de plus en plus mince. *Enfin*, ulcus, qui se cicatrise 20-25 jours après l'injection.

[Rappelons l'empâtement transitoire avec coloration rosée de la peau, que détermine le venin chauffé à 75 degrés. Notons aussi l'existence de termes de passage entre l'escarre humide et le type V (escarre de moins en moins humide et de plus en plus violette) et entre le type V et l'empâtement transitoire (tache violet foncé, pâlissant lentement)].

Injections intrarachidiennes.

Région sous-occipitale. Le résultat de ces injections prouve l'absence de phénomènes de curarisation, c'est-à-dire l'absence de neurotoxine.

1 milligramme tue en 1/2 heure; 0,5 milligramme, en quelques heures ; 0,05 milligramme en 1 jour 1/2. Nous décrirons ces *trois types*, successivement.

Mort en 1/2 heure. — Presque immédiatement : course folle, mydriase, pâleur des oreilles. L'animal tourne quelquefois en cercle pendant dix minutes. Puis, myosis et vaso-dilatation des oreilles; enfin, chute sur le côté; ecchymoses sous-conjonctivales, au niveau de la paupière supérieure; arrêt respiratoire, convulsions, soif d'air..., mort.

A l'autopsie. — Nuque infiltrée de sang. Congestion hémorragique des méninges cervicales; congestion et piqueté hémorragique des centres nerveux, hémorragies dans les gaines optiques. Pétéchies sur le péricarde et l'endocarde; congestion du foie; sang incoagulable.

Mort en quelques heures. — Cris, excitation; mydriase, pâleur des oreilles; parésie des membres antérieurs. Puis, myosis et vaso-dilatation des oreilles, narcose, dyspnée, agitation de temps en temps. Enfin, chute sur le côté; ecchymose sous la paupière supérieure, arrêts respiratoires, etc...

Lésions : ut supra.

Mort en 1 jour 1/2. — D'abord, exorbitis, mydriase, pâleur des oreilles, cris ; puis, myosis, dilatation des vaisseaux auriculaires ; enfin, guérison apparente. Le lendemain, l'animal est couché sur le côté, inerte, totalement paralysé ; on retrouve l'ecchymose palpébrale caractéristique. Le soir, cris, convulsions. Mort dans la nuit.

Lésions : toujours les mêmes, mais hémorragies un peu moins violentes.

Recherches sur les cobayes.

Nous étudierons, successivement, les *injections intraveineuses* et *sous-cutanées.* Nous avons toujours opéré sur des sujets mâles de 500 grammes.

Injections intraveineuses.

2,5 milligrammes tuent en 1/2 heure ; 2 milligrammes, en 1/2 heure à 1 h. 1/2 ; 1 milligramme, en 1 h. 1/2 à 2 h. 1/2 ; 0,5 milligramme, en 2 h. 1/2 à plusieures heures ; 0,25 milligramme représente la dose limite (mort ou simple incoagulabilité temporaire du sang).

Influence du chauffage : Comme pour le lapin, dans les veines.

Nous décrirons *trois types schématiques* : mort en 1/2 heure, mort en 1 h. 1/2 à 2 h. 1/2, phénomènes transitoires et guérison.

Mort en 1/2 heure. — Immobilité, stupeur, exorbitis, ou bien cris et sauts. L'animal s'affaisse ensuite, incline la tête, ferme les yeux et tombe sur le côté (frémissements lombo-fessiers, disparition de l'exorbitis). Dyspnée ou arrêts respiratoires. Puis, narcose, avec respiration régulière. Tantôt le sujet se réveille incomplètement à un moment donné, fait même éventuellement quelques pas et retombe dans le sommeil ; tantôt le seul indice de moindre narcose réside dans les mouvements des oreilles, répondant à un bruit. Enfin, respiration de plus en plus lente, ensuite intermittente (avec convulsions), soif d'air, disparition du réflexe cornéen, arrêt définitif de la respiration.

A l'autopsie. — Le cœur bat. Congestion et hémorragies des intestins (surtout du gros intestin). Congestion du foie, de la rate, des surrénales, de l'estomac. Hémorragies du diaphragme (sauf au niveau du trèfle aponévrotique), des muscles intercostaux, de l'épicarde, de l'endocarde (quelquefois, à gauche seulement). Poumons exsangues ; sang incoagulable ; plasma rosé ou incolore.

Mort en 1 h. 1/2-2 h. 1/2. — Agitation ou non ; ensuite immobilité ; mâchonnement ; exorbitis, yeux pleureurs. Un peu d'hémorragie par la plaie cervi-

cale. L'animal titube quand il veut marcher, puis s'aplatit et tombe sur le côté. L'exorbitis disparaît. Dyspnée ou arrêts respiratoires. Ventre gros, plus ou moins sensible. Narcose, avec réveils de moins en moins complets. Finalement, respiration de plus en plus lente; arrêts temporaires, accompagnés de convulsions, soif d'air, arrêt ultime.

A l'autopsie. — Parfois hémopéritoine. Le cœur bat; sang incoagulable, plasma *clair*. Hémorragies : sur les intestins et souvent sur l'estomac, sur les fibres musculaires du diaphragme et des parois abdominales ; au niveau de la vessie et de la vésicule biliaire. Congestion des reins et des surrénales; urine sanglante dans la vessie, parfois bile sanglante. Poumons éventuellement tachetés.

Quand l'animal succombe en plus de 2 h. 1/2, les phénomènes cliniques évoluent plus lentement; il y a toujours des accès de somnolence.

Phénomènes transitoires et guérison. — Accidents plus ou moins marqués, habituellement peu durables. Incoagulabilité transitoire du sang.

Injections sous-cutanées.

On ne tue jamais les animaux, même avec 2 milligrammes (sauf le cas de complications). Le chauffage à 55 degrés n'altère pas la toxicité (locale); le chauffage à 65 degrés ne permet plus d'obtenir que le « type V », sauf pour des doses très fortes; le chauffage à 75 degrés détruit presque totalement l'activité du venin (simple empâtement transitoire).

Nous décrirons *deux types schématiques* : eschare humide et « type V ».

Escarre humide. — (Non hémorragique, contrairement à celle du lapin.)

Dans la journée. — Empâtement mou, qui peut devenir volumineux. Suintement sanguinolent par l'orifice de l'aiguille. Tache bleu verdâtre, cerclée ou parsemée de violet; l'épiderme se détache bientôt : surface luisante (1-2 francs) humide, qui prend un ton variable (saumon sale, lie de vin ou mêlé).

Le lendemain empâtement stationnaire. Escarre noire ou « parchemin mouillé » cerclé de noir.

Puis, l'empâtement retrocède et durcit, formant un disque qui entoure l'eschare (devenue toujours noire à ce moment). L'eschare se détache, démasquant un ulcus qui se cicatrise, tandis que le disque se résorbe. Mais les *complications* sont *fréquentes* (infection à *pasteurella*, notamment : de plus en plus étendues localement; mort rapide habituelle).

« Type V ». — *Dans la journée.* Empâtement (volume maximum : celui d'une noix). Tache violette de nuance variable (étendue : 50 centimes).

Le lendemain. — Empâtement stationnaire, la tache brunit.

Puis, la tache noircit, l'empâtement diminue et s'aplatit. L'eschare, noire, se soulève et l'ulcus, mis à nu, se cicatrise rapidement.

(Comme chez le lapin, il existe des termes de passage entre l'eschare humide et le type V; le type V et l'empâtement transitoire.)

Caractères du venin le moins pur.

Cet échantillon, d'aspect terne, grisâtre, demi-opaque et non brillant, ambré, transparent, donne l'impression d'avoir « mûri » avant ou pendant sa dessiccation (autolyse véritable). Il se comporte, en effet, comme le venin de *Trimeresurus riukiuanus Lachesis flavo-viridis*, artificiellement mûri (M. Nicolle et A. Berthelot), mais non totalement mûri (stade auquel une dose limite, injectée dans la veine du lapin, le tue « sur la table » ou demeure tout à fait sans action).

Comparé au venin pur, il s'en distingue surtout par les caractères suivants :

Dans les veines du lapin. — Symptomatologie plus confuse ; absence de certains phénomènes (congestion des muqueuses et de la peau) ; paraplégie plus fréquente et durant jusqu'à la mort.

Dans les veines du cobaye. — Mort rapide fréquente, alors qu'elle est inconnue avec le venin pur.

Sous la peau du lapin et du cobaye. — Eschare plus humide, indiscernable de celle que détermine le venin de *Trimeresurus*.

IMMUNISATION DU BÉTAIL ÉGYPTIEN
CONTRE LA PESTE BOVINE

PAR LA MÉTHODE SIMULTANÉE DU SÉRUM ET DU SANG VIRULENT

DURÉE DE L IMMUNITÉ

par PIOT-BEY,

Directeur du Service vétérinaire aux Domaines de l'État
(Le Caire).

Les premiers essais d'immunisation active contre la peste bovine furent appliqués sur une grande échelle au début de l'épizootie de 1903, qui, en moins d'une année, enleva certainement plus du tiers de la population bovine et buffaline de l'Égypte.

L'expérience fut désastreuse, très probablement par suite du faible pouvoir immunisant des divers sérums utilisés par l'Administration sanitaire. Aussi la méthode fut-elle totalement abandonnée, et on n'eut plus recours qu'à l'immunisation passive avec le sérum seul jusqu'en 1912.

Tenu légalement d'employer cette méthode à l'Administration des Domaines de l'État, je ne tardai pas à constater qu'elle était aussi onéreuse qu'inefficace. En effet les injections de sérum, même utilisées à plusieurs reprises, par doses de 100 cent. cubes, à intervalles rapprochés de 12 à 20 jours, sur un troupeau envahi par la maladie, n'empêchaient nullement l'éclosion de nouveaux cas sur le reste du troupeau. C'est alors que, me basant sur des observations cliniques bien circonstanciées, corroborées ultérieurement par des expériences entreprises par la Commission de la peste bovine, sur le faible rayon de contagiosité à distance de la peste bovine, j'appliquai la méthode exclusive d'isolement individuel des sujets contaminés à chaque apparition de la maladie dans les fermes

domaniales, avec un tout autre succès que celui résultant de l'emploi du sérum seul (1).

Donc, en ce qui concernait l'Administration des Domaines, où l'organisation vétérinaire, le contrôle éclairé et incessant permettaient l'application rationnelle de l'isolement individuel, la question prophylactique était résolue; mais elle restait pendante pour tout le reste du pays où cette méthode était inapplicable.

Justement préoccupé d'un tel état de choses qui menaçait de s'éterniser, le Gouvernement égyptien constitua, en 1912, une Commission de la peste bovine, avec mission de rechercher et de proposer les meilleurs moyens de faire disparaître du pays le terrible fléau (2).

Dans une de ses réunions, je fis part à la Commission des excellents résultats que je voyais obtenir depuis quelque temps à l'Institut de sérum antipestique de l'Abbassia (près du Caire), dirigé par mon excellent confrère anglais, de Gordon, sur l'immunisation des taureaux destinés à la préparation du sérum. Les pertes de ce chef étaient inférieures à 2 p. 100. Je voyais là une preuve sérieuse de l'efficacité du sérum officiel, et, avec ce faible taux de mortalité, la possibilité de reprendre les essais d'application de la méthode simultanée sur le bétail domanial qui m'est confié.

Ma proposition fut acceptée; et le 4 juin 1912, avec le concours du professeur Mason, 52 bœufs de la ferme de El Nattaf furent injectés avec 100 cent. cubes de sérum et 2 cent. cubes de sang virulent (3).

Du 3e au 4e jour après l'injection, 28 de ces animaux commencent à réagir avec une température allant jusqu'à 42 degrés et même 42°3, de l'inappétence plus ou moins complète, le poil terne et piqué, une forte coloration de la conjonctive, des érosions labiales, de la diarrhée, etc.

(1) Voir à ce sujet les deux Notes que j'ai présentées à l'Académie de médecine, 1er octobre 1907 et 6 juillet 1909.

(2) Cette Commission était composée de feu Birch Pacha, président. Dr Todd, White, Littlewood, Branch et Piot-Bey, rapporteur.

(3) La dose de 100 cent. cubes fut établie empiriquement; jusqu'ici il n'a pas été possible, que je sache, du moins, de déterminer méthodiquement le pouvoir immunisant de l'unité de sérum antipestique.

Entre le 8e et le 10e jour, la température s'abaisse assez brusquement jusqu'à la normale.

Le 14e jour, se produisirent 3 cas d'hématurie, avec forte hyperthermie, dont un avec dysenterie très sanguinolente; l'un des malades meurt le 19 au matin avec toutes les lésions de la piroplasmose. Le sang de ces 3 animaux a présenté au microscope de nombreux piroplasmes bigéminés.

On pouvait conclure de ces résultats que les 28 bœufs qui avaient réagi étaient restés susceptibles à la peste bovine, tandis que les 24 autres jouissaient d'une immunité naturelle contre la maladie.

La preuve en était fournie le 19 juin suivant, c'est-à-dire 15 jours après l'immunisation active de ces animaux, par l'injection critère de 10 cent. cubes de sang virulent à 30 d'entre eux, pris indifféremment parmi ceux qui avaient ou n'avaient pas réagi.

Aucun de ces 30 bœufs ne manifesta le moindre trouble thermique ou clinique à la suite de cette inoculation, et le 1er juillet suivant, les 51 bœufs de la ferme étaient remis au travail.

En présence d'un pareil succès, je fus autorisé à étendre immédiatement la vaccination à tous les bovidés de l'Administration des Domaines et à tous ceux qui seraient achetés dans l'avenir. C'est ainsi que, du 27 juin 1912 au 9 février 1913, 1.958 bœufs furent immunisés contre la peste bovine, avec le concours de MM. Mason et Cooper, des Services Sanitaires du Gouvernement.

La température de chaque individu vacciné était prise régulièrement, chaque jour, matin et soir, pendant les 20 jours qui suivaient l'opération, dans le double but de s'assurer de la réaction post-opératoire et de déceler en même temps les complications plus ou moins frustes des diverses piroplasmoses.

Proportion des réactions chez les adultes.

Il est intéressant de relever la proportion des individus qui présentèrent la réaction pestique caractéristique, à la suite des vaccinations. Cette réaction s'est montrée sur une échelle assez variable suivant les différents lots d'animaux. Ainsi, sur

l'ancien bétail des Domaines qui se renouvelle chaque année par des achats d'adultes dans la proportion d'environ 1/8 de l'effectif général, il y eut de 37 à 60 p. 100 de réactions, et sur les bovidés achetés de novembre 1912 à février 1913, au nombre de 341, le quantum de réactions s'éleva de 17 à 56 p. 100.

On ne saurait m'objecter qu'un certain nombre des individus qui se sont montrés insensibles à la double inoculation avaient été immunisés par une atteinte antérieure de la maladie, car la proportion de ces animaux ne dépassait pas quelques unités, et d'ailleurs chacun d'eux ne reçut au moment des vaccinations que le sang virulent seul, auquel aucun n'a réagi.

Proportion des réactions sur les veaux.

Sur de jeunes bêtes le résultat fut tout différent.

Un premier lot de 9 veaux nouvellement achetés, âgés de 5 à 8 mois, fut inoculé au sérum et au sang virulent le 14 juillet 1914; il donna 7 réactions très nettes et 2 plus faibles, mais encore caractéristiques.

Un 10e veau du même lot, vacciné avant l'achat, fut l'objet d'une injection critère de sang virulent qui ne donna lieu à aucune réaction thermique ou clinique.

Le 9 mars 1915, un second lot de 34 veaux et d'un jeune buffle fut l'objet d'une nouvelle expérience; 4 d'entre eux portaient à l'oreille la marque d'une vaccination antérieure à l'achat; ils reçurent quand même la double injection de sérum et de sang virulent, 2 avec réaction nette et les 2 autres sans réaction. (Il est fort probable que les 2 premiers veaux avaient reçu indûment la marque spéciale à la vaccination.)

Les 29 autres fournirent 28 réactions positives, et le jeune buffle réagit également.

De ces deux séries d'expériences, on peut donc conclure que la presque totalité des bovidés âgés de moins d'un an sont susceptibles à la peste bovine.

Influence de l'immunité des géniteurs sur les produits.

Je crois en outre utile de relater ici les résultats d'une expérience tentée sur deux veaux, issus, le premier, d'une mère

immunisée pendant la gestation et d'un père non vacciné, le second, de deux géniteurs préalablement vaccinés.

Sur le premier, âgé de 18 mois, la réaction clinique fut des plus bénignes; mais l'hyperthermie se montra très nette, ainsi qu'il apparaît du diagramme :

	Température.
Le 2e jour après la double inoculation.	39°8
Le 3e jour — — —	39°9
Le 5e jour — — —	40°2
Le 6e jour — — —	40°8
Le 8e jour — — —	40°7
Et le 10e jour — — —	40°1

Sur le 2e, âgé de 6 mois, la température oscille du 3e au 4e jour aux environs de 39 degrés, sans symptômes cliniques.

Il serait assurément prématuré de vouloir tirer de ces seules expériences des conclusions quant à l'influence immunisatrice des géniteurs sur leurs produits. On voit seulement dans ces 2 cas que l'influence de la mère est pour ainsi dire nulle, tandis que l'immunisation des 2 géniteurs semble conférer au produit l'immunité complète.

Controle de l'immunité acquise par les vaccinations.

Une première preuve de l'immunité absolue conférée au bétail domanial depuis juin et juillet 1912, époque où tous les bovidés de l'Administration furent vaccinés par la méthode simultanée, c'est que, malgré les fréquentes apparitions de la peste bovine aux portes mêmes des fermes domaniales, aucun cas de peste ne s'est produit sur ces animaux depuis plus de 3 ans. Bien plus, lors de l'apparition d'une grave épizootie pesteuse sur le bétail de nos locataires, où les pertes se chiffrèrent par centaines, bon nombre des bovidés domaniaux furent prêtés à ces locataires pour leur permettre de mener à bien les labeurs du coton. Notre bétail a ainsi travaillé côte à côte avec celui des locataires, pendant plus d'un mois dans un milieu violemment infecté, sans qu'aucun cas de contamination fût constaté.

A côté de ces épreuves pratiques dont on ne saurait contester la valeur, la démonstration irréfutable de la persistance

de l'immunité acquise à la suite des vaccinations fut donnée par l'injection de sang virulent, aux doses de 2, 4, 6, 8 et 10 cent. cubes, à différents lots d'animaux comprenant de 50 à 100 têtes, pris parmi ceux qui avaient été vaccinés en juin et juillet 1912, 15 jours, 10, 14, 17 et 18 mois, 2 ans et demi et 3 ans après la vaccination. 681 animaux reçurent ainsi l'injection critère de sang virulent, sous le contrôle et avec l'aide des vétérinaires sanitaires.

Aucun de ces animaux n'a présenté la moindre réaction thermique ou clinique à la suite de ces injections.

Il nous paraît superflu d'insister sur la valeur de tels résultats qui ne se retrouvent, avec la même précision, dans aucune autre affection humaine ou animale, justiciable de la sérothérapie.

Malgré l'assertion de certains auteurs vétérinaires, on admettait généralement que la peste bovine ne récidive pas ; mais il manquait la preuve expérimentale de cette hypothèse.

Nous croyons l'avoir apportée dans l'exposé de ces multiples expériences, au moins pour une période de 3 ans qui représente la majeure partie de la durée économique des bovidés dans beaucoup de contrées de l'Europe.

Accidents consécutifs aux opérations de vaccination et de controle de l'immunité.

Sur les 2.010 bovidés adultes injectés à l'Administration des Domaines, 2 seulement ont présenté des lésions anatomiques pouvant faire croire à la peste bovine; mais le sang de ces animaux, contrôlé au point de vue de la virulence, s'est montré inactif; 16 bœufs sont morts de piroplasmose (fièvre du Texas, ou forme égyptienne de la malaria) dûment constatée par l'examen du sang, dans les 15 jours qui ont suivi l'opération ; la tuberculose a fait 3 victimes dans le courant du mois après la vaccination; c'est d'ailleurs la mortalité moyenne de ce chef, en temps ordinaire, sur le bétail des Domaines, et c'est tout au plus si on peut accuser l'injection de sérum et de sang virulent d'avoir donné un coup de fouet à la maladie préexistante.

Enfin, 3 bœufs ont succombé à divers accidents, hémorragie

abdominale, athérome de l'aorte postérieure, corps étranger du cardia.

En dehors de cette mortalité, 4 bœufs présentèrent des complications de paralysie générale ou de paraplégie, dont un seul guérit.

C'est donc, en portant même tous ces accidents au passif de l'opération, une perte à peine supérieure à 1 p. 100 contre l'énorme avantage d'une sécurité absolue envers la peste bovine pendant la plus grande partie de l'existence du bétail.

En somme, le danger de beaucoup le plus redoutable de la vaccination antipestique réside dans les complications de piroplasmoses, comme l'ont constaté depuis longtemps tous les auteurs (*quorum pars parva fui*) qui se sont occupés de cette question.

Il y eut de ce chef, sur les 2.010 sujets adultes vaccinés aux Domaines, 16 cas de mort et 25 guérisons. 476 bœufs, achetés ultérieurement, montrèrent 42 cas de piroplasmoses et seulement 3 décès à la suite des vaccinations. Enfin, les 681 têtes de bétail qui reçurent successivement l'injection critère de sang virulent fournirent 11 cas malariques traités avec succès. Sur les 44 veaux et la bufflonne, immunisés en 2 lots, il se produisit 16 cas malariques qui cédèrent au traitement thérapeutique et un cas grave qui entraîna l'abattage du sujet.

J'ai montré (1) comment avec les injections hypothermiques d'arrhénal, dont l'emploi m'a été conseillé par le professeur Armand Gautier, de l'Institut, je suis parvenu à guérir *tous* les cas de piroplasmose non compliqués de maladies intercurrentes, à la condition d'intervenir le jour même du début de la malaria.

Vaccinations antiseptiques pratiquées en Égypte par le Service vétérinaire officiel.

Lorsque les résultats obtenus par les expériences domaniales furent portés à la connaissance du Gouvernement par la Commission de la peste bovine, le Service Vétérinaire officiel fut

(1) L'Arrhénal dans le traitement des maladies à hématozoaires de l'homme et des animaux in *Bulletin de l'Institut égyptien*, année 1914.

immédiatement autorisé à effectuer systématiquement la vaccination dans les différentes provinces de l'Égypte, en commençant par les districts cotonniers.

Le rapport annuel de M. Littlewood, directeur de ce Service, donne les chiffres suivants :

Bovidés injectés. . .	290.726	Mortalité.	1,45 p. 100

Il est à peu près certain que, sans l'épouvantable guerre déchaînée par l'Allemagne, l'extension de la vaccination à tout le bétail égyptien aurait fait disparaître à l'heure actuelle la peste bovine de toute l'étendue du pays.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Mai. — N° 5.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

PARIS
MASSON ET C[ie], ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et C[ie],
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 5

30e ANNÉE MAI 1916 N° 5

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Mètchnikoff.

QUELQUES OBSERVATIONS SUR LES *TRICONYMPHIDÆ*

par CARLOS FRANÇA.

Il n'existe pas dans les Protozoaires de formes plus intéressantes ni plus complexes que celles qui ont été réunies depuis longtemps sous la désignation de Trichonymphides, mais il est vrai aussi que ces formes sont pour la plupart très mal connues. Les descriptions de ces parasites sont, d'ordinaire, incomplètes, ce qui explique que leur classification et les relations qui existent entre elles soient encore l'objet de vives discussions. Il suffit de lire les différents ouvrages de Protozoologie, même les plus modernes, pour se convaincre de la vérité de notre affirmation.

Faisant un contraste frappant avec la minutieuse description de formes récemment découvertes, on trouve des informations très incomplètes sur des formes décrites depuis longtemps. On ne peut évidemment pas faire la détermination de la position systématique de ces curieux Protozoaires et signaler les affinités qu'ils présentent sans connaître d'une façon rigoureuse et détaillée la structure d'un grand nombre d'entre eux.

Cette note, la première d'une série, a l'intention de contribuer à la connaissance de la morphologie et de la structure

d'une des espèces de Triconymphidæ encore mal connue, quoique des plus anciennement décrites, et d'ajouter à la liste des espèces une nouvelle dont l'appareil flagellaire est des plus intéressants.

Nous croyons que ces notes auront une certaine utilité en fournissant des éléments pour de futurs travaux d'ensemble.

I

Triconympha agilis Leidy 1877.

Triconympha agilis a été d'abord découverte par Leidy en 1877 chez *Termes flavipes*, dans l'Amérique du Nord et elle a été trouvée chez *Leucotermes lucifugus* en Italie (Grassi, Foà).

En Portugal on trouve cette espèce chez presque tous les exemplaires de *L. lucifugus* qu'on examine.

La description de ce parasite donnée par Bütschli a été reproduite, presque sans aucune modification, dans les plus récents ouvrages sur les Protozoaires, lesquels reproduisent également la figure du travail de Leidy. Cette figure représente le parasite à l'état frais et elle est incorrecte.

Trichonympha agilis a une forme sensiblement ovalaire et son corps est nettement divisé en trois parties inégales : une portion antérieure, la plus petite, hémisphérique ; la seconde, un peu plus grande, en forme de cône tronqué, et finalement la troisième portion, très volumineuse, où se trouve le noyau du parasite.

La première et la seconde portion sont unies intimement, elles font corps ; au contraire la liaison avec la portion la plus grande du corps est établie de façon à permettre un déplacement latéral de la partie antérieure du Protozoaire. A l'intérieur du segment hémisphérique, et accolé à sa base, on voit un corpuscule fortement réfringent qui se prolonge dans le second segment par une tige qui lie au reste du corps ces segments antérieurs. Les flagelles, qui sont d'inégales dimensions, se détachent en trois séries.

La première série est constituée par les flagelles les plus

petits. Ils sortent de la ligne d'union des deux premiers segments et ils s'infléchissent en avant.

La seconde série est composée par des flagelles un peu plus longs qui se détachent de tout le bord du second segment. Les flagelles du troisième groupe, les plus longs, semblent sortir de la partie antérieure du troisième segment du parasite et ils se courbent au long du corps de façon à en envelopper l'extrémité postérieure quand le parasite se déplace.

Triconympha agilis se déplace avec une grande vélocité et, pendant la marche, son extrémité antérieure, constituée par les deux premiers segments, se tourne tantôt vers l'un des côtés, tantôt vers l'autre, et parfois elle présente de curieux mouvements de propulsion.

A l'état vivant la différence entre la structure du cytoplasme du segment prénucléaire et celle du segment post-nucléaire est très nette. Finement granuleuse dans le premier, elle est nettement alvéolaire dans le second.

Des préparations colorées à l'hématoxyline ferrique sont indispensables pour bien étudier toute la curieuse structure du parasite.

On voit alors que, dans la partie antérieure du Protozoaire, il existe une formation fortement sidérophile ayant la forme d'un champignon, dont le chapeau constitue le squelette du premier segment et dont le pied, dilaté en arrière, forme l'axe du second segment. Cette formation sidérophile se continue par une portion plus étroite qui va se terminer par une plaque sidérophile située sur le bord antérieur du troisième segment du corps du parasite.

Cette plaque se colore moins intensivement par l'hématoxyline ferrique que la formation sidérophile des deux premiers segments et il faut de bonnes préparations pour la voir nettement.

La seule liaison entre l'extrémité antérieure, constituée par les deux segments antérieurs, et le corps du parasite, semble être la portion étroite intermédiaire à la plaque et au bâtonnet axial des premiers segments.

Les nombreux flagelles de *Triconympha agilis* se détachent de la formation sidérophile en trois séries. Les flagelles de la première série s'insèrent sur la base de la portion dilatée que

nous avons comparée au chapeau de l'appareil sporifère d'un champignon; la seconde série, constituée par les flagelles moyens, prend naissance sur les bords du pied, et finalement les flagelles de la troisième s'insèrent sur la plaque du bord antérieur du troisième segment.

Chez *Triconympha agilis* il existe une séparation très nette entre l'endoplasme et l'ectoplasme, spécialement dans la portion antérieure du troisième segment. La différence de structure du cytoplasme dans la partie antérieure et dans la partie postérieure au noyau, que nous avons mentionnée en décrivant le parasite vivant, est encore plus accentuée dans les préparations colorées. C'est dans la portion post-nucléaire, à structure alvéolaire, qu'on trouve toujours de nombreux fragments de bois qui peuvent atteindre des dimensions considérables. Le noyau est situé dans la partie moyenne du corps. Il est arrondi, très riche en chromatine sous la forme d'abondants et volumineux chromosomes elliptiques.

Dans la plupart des exemplaires, on voit que le noyau est enveloppé par des stries courbes qui constituent ce que Grassi appelle le *cestello*. Le noyau occuperait le fond de cette formation, qui est visible aussi bien chez les exemplaires vivants que chez les exemplaires colorés à l'hématoxyline ferrique.

L'ectoplasme de la partie antérieure du corps est strié et ces striations obliques en dehors et en arrière correspondent au passage des flagelles à travers l'ectoplasme.

Le parasite est toujours très grand : sa longueur peut osciller entre 65 et 105 μ et sa largeur entre 35 et 49 μ. La distance de l'extrémité antérieure au noyau oscille entre 31 et 43 μ. Les deux premiers segments mesurent 7 μ environ. Le noyau a de 10 à 13 μ de diamètre.

Nous n'avons pas vu des figures de division de *T. agilis*. Le processus de multiplication de ce parasite a été bien étudié par Foà. On voit que la division nucléaire est précédée par celle de la formation sidérophile.

Cette formation sidérophile est évidemment un blépharoplaste ou kinétonucleus et ce blépharoplaste, dans la division des Trichonymphides, joue le rôle de centrosome [(*Trichonympha* (Foà), *Pseudotrichonympha* (Hartmann)]. Chez un

autre Flagelle (*Trypanosoma hylæ*), nous avons vu (1907) les blépharoplastes pendant la division mitosique jouer le rôle de centrosomes.

II

Leidya Metchnikovi, n. g. n. sp.

Une des formes les plus curieuses de Triconymphides qu'on trouve chez *Termes lucifugus* du Portugal est celle que nous allons décrire.

Nous croyons pouvoir identifier cette forme à celle que Leidy a figurée comme en étant la forme jeune de *Trichonympha agilis*; Bütschli a reproduit la figure (Pl. 76), mettant en doute qu'il s'agissait d'une forme jeune de cette espèce : « Recht zweifelhaft erscheint es, ob alle von Leidy beschreibenen Jugendformen der Trichonympha wirklich hierher gehören. Dies gilt spezial von den lang spindelförmigen, spiral gestreiften und total bewimperten Formen, welche sehr an die gleich zu erwähnende Gattung *Pyrsonympha* erinnern. »

Dans le traité de Delage et Hérouard, on trouve la figure de Leidy, mais Delage pense que les relations de parenté de cette forme avec le genre *Triconympha* « ne sont nullement démontrées ». A notre avis, il s'agit en effet d'un genre nouveau, entièrement différent des genres jusqu'ici décrits, pour lequel nous proposons le nom de *Leidya* en hommage au savant qui a contribué le plus à la connaissance des Trichonymphides. La seule figure que nous connaissions de cette forme, celle de Leidy, reproduite par Bütschli, puis par Delage et Hérouard, est incorrecte; elle nous permet cependant l'identification parce qu'elle montre clairement la double spirale sur laquelle prennent insertion les flagelles de cet intéressant Flagellé.

L'examen à l'état frais nous fait voir les principaux caractères de ce Protozoaire : corps allongé à extrémité antérieure amincie, flagelles revêtant tout le corps et s'insérant sur une double ligne spirale.

Les préparations colorées par l'hématoxyline ferrique nous montrent bien la structure du parasite. Il a, nous l'avons déjà

dit, un corps allongé et son extrémité antérieure est amincie tandis que la postérieure est émoussée. L'extrémité antérieure est occupée par une formation sidérophile allongée, se rétrécissant en arrière. Sur cette formation s'insèrent, comme les barbes d'une plume, d'autres petits filaments desquels se détachent les flagelles antérieurs. Le filament se bifurque postérieurement et ces branches terminales parcourent en double spirale tout le corps du parasite. Sur cette double spirale prennent naissance les innombrables flagelles que possède ce Protozoaire.

Le noyau arrondi, relativement volumineux et à chromatine très compacte, occupe l'union des tiers antérieur et moyen du corps.

Sur les lignes spiralées sur lesquelles s'insèrent les flagelles, on distingue, chez des exemplaires bien colorés, de petites granulations en série, sans doute des grains basaux.

*
* *

L'insuffisance de nos connaissances sur la structure d'un grand nombre de Triconymphides explique la multiplicité de groupements systématiques de ces curieux Protozoaires.

Chaque auteur adopte une classification et Grassi, qui étudie ces formes depuis longtemps, a présenté récemment une classification qui ne nous semble pas plus heureuse que celle de ses devanciers.

L'étude des Triconymphides est encore loin de nous permettre une systématique définitive; nous pouvons déjà dire, cependant, qu'il n'est pas naturel d'inclure dans l'ordre *Polymastigina* Blochmann la famille *Calonymphidæ* comme le fait Grassi.

Dans les *Polymastigina*, on doit, avec Grassi, placer la famille *Dinenymphidæ* (1).

Les autres familles doivent constituer l'ordre *Hypermastigina* Grassi, mais pas suivant le groupement indiqué par le savant italien. Dans sa revision des Triconymphides, Grassi reconnaît

(1) *Devescovina striata* Foà (1905) doit aussi être considérée comme un *Polymastigina*.

à l'ordre *Hypermastigina* une seule famille *Lophomonadidæ*, où il place les genres *Lophomonas*, *Joenia*, *Triconympha* et d'autres genres, quelques-uns desquels, créés par Grassi lui-même, sont encore mal définis. Or il n'est pas rationnel de grouper dans une même famille les genres *Lophomonas* et *Joenia* avec le genre *Triconympha*.

Il nous semble que l'état actuel de nos connaissances sur les Triconymphides nous permet d'établir la classification suivante :

Ord. Hypermastigina Grassi et Foà (1911).

Des formes d'ordinaire très grandes, ayant de très nombreux flagelles dont la disposition est très variable.

Cet ordre comprend les familles :

I. — *Calonymphidæ* Grassi.

Grandes formes à noyaux multiples. A chaque noyau correspond un blépharoplaste d'où sort un ou plusieurs flagelles. Filaments axiaux.

Cette famille comprend les genres :

A. — *Calonympha* Foà (1905),
C. grassii Foà, parasite de Termites du Chili.

B. — *Stephanonympha* Janicki (1911),
S. silvestrii Janicki (1911).

II. — *Lophomonadidæ* Grassi (1911).

Grandes formes à un seul noyau. Bâtonnet axial enveloppant dans sa partie antérieure le noyau. Appareil basal bien développé.

Cette famille comprend les genres :

C. — *Lophomonas* Stein (1860),
L. blattarum Stein (1860), parasite du *Periplaneta orientalis*.

D. — *Joenia* Grassi (1885),
J. annectens Grassi (1885), parasite de *Calotermes flavicollis*.

III. — *Triconymphidæ* Leidy (1877).

Grandes formes à un seul noyau. Ces formes ne possèdent pas de filament axial. Formation sidérophile à l'extrémité antérieure.

Cette famille comprend les genres :

E. — *Triconympha* Leidy (1877),

T. agilis Leidy (1877), parasite de *Termes flavipes* (Amérique) et de *T. lucifugus* (Europe).

F. — *Gymnonympha* Dobell (1910),

G. zeylanica Dobell (1910), parasite de *Calotermes militaris* Ceylan.

IV. — *Holomastigidæ* n. fam.

Grandes formes à un seul noyau, sans bâtonnet axial. Flagelles sur toute l'étendue du corps. Ces flagelles sont insérés sur une seule ou plusieurs lignes à trajet linéaire ou spiralé.

Cette famille comprend les genres :

G. — *Pseudotriconympha* Grassi et Foà (1911), forme mâle (1), ou forme A de *Triconympha hertwigi* Hartmann.

P. hertwigi (Hartmann), parasite de *Captotermes hartmanni* (Holmgr.) Brésil.

H. — *Holomastigotoides* Grassi et Foà (1911), forme femelle ou forme B de *T. hertwigi* Hartmann.

H. hertwigi (Hartmann), parasite de *Captotermes hartmanni*.

I. — *Leidya* n. g.

L. metchnikovi n. sp., parasite de *Termes lucifugus* du Portugal et probablement de *T. flavipes* (Amérique).

Des études ultérieures nous diront si ces familles sont suffisantes, s'il y aura opportunité à créer quelques sous-ordres, etc. Il nous semble, cependant, que ce groupement permet d'apprécier les affinités des différentes familles et des différents genres.

On peut, en effet, voir tous les degrés de transition entre les formes extrêmes. Des *Calonymphidæ*, possédant de nombreux

(1) Grassi, dans son travail, considère le genre *Pseudotriconympha* comme étant la forme femelle de *Triconympha hertwigi*. C'est évidemment inexact. La diagnose sommaire que Grassi donne du genre *Pseudotriconympha* montre déjà l'identité entre ce genre et la forme mâle, c'est-à-dire la forme A du parasite découvert et si bien décrit par Hartmann. D'un autre côté, la désignation *Pseudotriconympha* ne pourrait s'appliquer qu'à la forme mâle, la seule qui présente des analogies avec le genre *Triconympha*.

petits noyaux à chacun desquels correspond un petit blépharoplaste, on passe aux *Lophomonadidæ*, à noyau unique et à petits blépharoplastes individualisés et disposés sur une plaque, et aux *Triconymphidæ* où les blépharoplastes se réunissent dans une seule formation, très volumineuse.

Finalement, les *Holomastigidæ*, possédant ou non un blépharoplaste volumineux et des granulations basales disposées en lignes parcourant tout le corps, représentent évidemment les formes de *Hypermastigina* qu'on peut considérer comme plus rapprochées des Ciliés.

Cette même sériation des familles nous semble rationnelle quand nous examinons d'autres éléments structuraux des Triconymphides.

Les filaments axiaux (homologues des axostyles des *Polymastigina*), bien développés chez les familles *Calonymphidæ* et *Lophomonadidæ*, sont atrophiés ou disparus chez la famille *Holmastigidæ*. Finalement, les corps parabasaux, ces corps énigmatiques qu'on a trouvés chez quelques *Polymastigina*, on les trouve dans les familles *Calonymphidæ* et *Lophomonadidæ* et ils semblent manquer dans les autres familles.

L'étude des différentes formes de *Triconymphides* nous montre que ces parasites doivent être placés, comme le fait Grassi, dans la classe *Mastigophora* et l'ordre *Polymastigina*.

Ce sont bien des *Mastigophora* dont l'appareil flagellaire peut être du type *polymastigote* ou du type *holomastigote* et chez lesquels on trouve tous les éléments structuraux qui existent chez les *Flagellata*. On serait, seulement, tenté de dire que chaque Triconymphide représente la fusion de plusieurs individus.

Collares, avril 1914.

BIBLIOGRAPHIE (1)

O. Bütschli. — *Protozoa in* : Bronn's *Klassen und Ordnungen des Thierreichs.* Bd I, 3. Abteilung, 1889.

G. N. Calkins. — *Protozoology*, New York, 1909.

(1) Nous n'avons pu, malheureusement, obtenir le travail de Porter, publié en 1897.

Y. Delage et E. Hérouard. — *Traité de Zoologie concrète*, t. I, Paris, 1896.

C. C. Dobell. — *On some parasite Protozoa from Ceylan. Spolia Zeylanica*, t. VII, décembre 1910.

F. Doflein. — *Lehrbuch der Protozoenkunde*. Iena, 1911.

A. Foà. — Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati. II. Processo de divisione della Triconinfe. Note prelim. in *R. C. della Acc. dei Lincei*, vol. XIII, 2e sem. 1904.

B. Grassi et A. Foà. — Intorno ai Protozoi dei Termitidi. Nota prelim. *R. C. della R. Acc. dei Lincei*. Vol. XX, 1o sem. 1911.

M. Hartmann. — Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Trichonymphiden (*Trichonympha hertwigi* n. sp.). *Festschrift zum sechzigsten Geburstage Richard Hertwigs*. Bd I, 1910.

E. A. Minchin. — *An Introduction to the study of the Protozoa*. London, 1912.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

QUELQUES OBSERVATIONS SUR LES PHILANTHES

CONTRIBUTION A L'HISTOIRE DE L'INSTINCT DES INSECTES

par M. E.-L. BOUVIER.

A l'époque, déjà lointaine (1900-1901), où j'étudiais les Bembex à Luc-sur-Mer et Lion-sur-Mer, je fis également de nombreuses observations sur le Philanthe apivore (*Philanthus triangulum* Fab.) qui était fort commun dans les dunes des deux localités. Faute de temps, ces observations restèrent inédites encore que plusieurs ne fussent pas dénuées d'intérêt. Il ne sera peut-être pas inutile de relever, parmi ces dernières, celles relatives aux habitudes fouisseuses des mâles et d'autres qui ont trait à la sociabilité de l'insecte. Avant d'aborder ce double sujet, il convient de noter pour mémoire que les femelles de notre Philanthe chassent l'Abeille commune, qu'elles la servent paralysée à leurs larves et qu'elles fouissent pour ces dernières et pour elles-mêmes un long terrier au bout duquel se trouvent les chambres larvaires.

Habitudes fouisseuses des mâles. — Mais où habitent les ♂ et sont-ils capables de fouir un terrier? A ces deux questions voici les réponses que je relève dans mon cahier de notes :

Le 25 et le 26 juillet, vers le milieu du jour, les ♀ voltigent en nombre sur la dune, devant le laboratoire maritime de Luc; les ♀ se tiennent presque toutes cachées, leur face jaune se montrant seule à l'orifice des nids.

Le 27, par une belle matinée qui fait suite à une nuit pluvieuse, je vois le terrier s'ouvrir et il en sort des ♂ aussi bien que des ♀. Je capture ainsi 4 ♂; ils étaient blottis dans des gîtes assez étroits qu'ils avaient sans doute dérobés à d'autres Hyménoptères de petite taille. D'autres ♂ rentrent dans des terriers qu'ils nettoient en rejetant le sable, à la manière des ♀.

Vers deux heures et demie le ciel devient orageux, les nids se ferment d'un monticule de sable et les ♂, presque tous sortis,

disparaissent rapidement. La plupart doivent se cacher dans des terriers ouverts, d'autres fouissent comme les ♀ pour se faire un abri et vont très vite en besogne. L'un d'eux profite du trou qu'avait fait l'extrémité de ma canne, creuse avec acharnement pour le rendre plus profond, puis, ayant sans doute atteint une excavation souterraine, s'enfonce bien davantage et ferme l'orifice du trou avec un monticule de sable.

Un autre ♂ cherche en vain, pour fouir, quelque endroit favorable; il trouve enfin une petite dépression, s'y occupe durant dix minutes et atteint un terrier libre où il disparaît. Mais il en sort bientôt, poursuivi par une ♀ dont c'était le gîte. Le malheureux semble désemparé et ramène les pattes antérieures sur son jaune visage. Peut-être déplore-t-il le temps perdu! Non loin de là est une autre dépression qu'il attaque sans délai. Mais le sol est dur et le travail pénible; l'insecte arrache avec ses mandibules, creuse des pattes, se met sur le côté ou le dos en bas, recourbant avec effort son abdomen; peu à peu il s'enfonce et bientôt disparaît; on ne le voit plus mais il travaille toujours, car la petite taupinière de déblai présente des soubresauts. Au bout de vingt-cinq minutes les mouvements cessent, la protection du Philanthe est assurée.

Ces observations, et beaucoup d'autres que je ne veux pas citer, démontrent sans conteste que les Philanthes mâles peuvent fouir comme leurs femelles, sinon avec le même art, du moins avec la même activité.

Habitudes sociales. — Le lendemain, je me rends de nouveau sur la dune, il fait beau temps, mais les pluies d'orage ont lavé le sol et fait disparaître les taupinières, d'un coup de tête les insectes ont vite fait d'ouvrir leurs terriers.

Or voici le curieux spectacle auquel j'assiste : d'un premier trou je vois sortir 5 ♀; d'un deuxième 1 ♂ et 2 ♀; d'un troisième 7 ♀; d'un quatrième 3 ♀; de plusieurs autres soit 1 ♂, soit 1 ♀. Les ♂ partent de suite et ne flânent pas à l'orifice comme les ♀.

A midi, tous les terriers sont ouverts. Une ♀ revient portant une Abeille et pénètre de suite dans l'un des orifices. Mais bientôt je vois sortir de ce nid 3 ♀ et il en reste une quatrième. Est-ce l'individu qui apporta l'Abeille? Je ne saurais le dire.

En tout cas, on peut conclure, de ces observations et de plusieurs autres analogues, que les Philanthes, au mois de juillet, peuvent cohabiter en nombre et vivre en bonne intelligence dans un même terrier. Je dis au mois de juillet, car je n'ai rien observé de semblable un peu plus tard. Il semble qu'au début, peu après l'éclosion, nos insectes présentent une sociabilité qui disparaîtra dans la suite, alors que chaque ♀ aura fondé un nid.

M. et Mme Peckham (1), aux États-Unis, ont relevé quelques faits semblables chez le *Philanthus punctatus* Say et ils les attribuent à une sociabilité familiale : « Quand les Guêpes sortent du cocon, écrivaient-ils en 1889, elles se trouvent en compagnie de leurs parents les plus proches et, en possession d'une demeure, elles vivent un temps toutes ensemble avant de se disperser pour s'occuper indépendamment de leurs intérêts propres. Le 5 août, nous découvrîmes une heureuse famille de cette espèce comprenant trois frères et quatre sœurs ; les femelles, avec leur face et leurs mandibules d'un jaune brillant, étaient plus casanières que les mâles. Les sept Guêpes paraissaient vivre dans les termes les plus amicaux... Le nid était ouvert le matin vers neuf heures. Elles sortaient une à une, se promenaient autour de l'entrée, puis partaient non sans laisser quelquefois l'une d'entre elles pour garder le nid toute la journée. Pendant cette période infantile elles ne rentrent pas, sauf pour passer la nuit. Parfois, elles ont des difficultés pour retrouver le gîte et travaillent à deux ou trois autres points avant d'y arriver.

« Nous tînmes ce nid en étroite observation, certains jours surveillant l'orifice depuis le moment où il était ouvert le matin jusqu'à ce qu'il fût clos à la nuit. Le 12 août, une femelle prit la responsabilité de faire domicile à part. Le 13 août, à huit heures et demie du matin, nous trouvâmes qu'une seconde femelle, peut-être inspirée par l'exemple de sa sœur, avait fait un nouveau nid à environ deux pouces du premier... »

Il ne semble pas douteux qu'on doive attribuer à une sociabilité familiale de même nature les groupements signalés plus haut chez notre Philanthe apivore, mais certains faits me

(1) George W. Peckham and Elizabeth G. Peckham. On the Instincts and Habits of the solitary Wasps (*Wisconsin Geol. and Nat. Hist. Survey*, Bull. nº 2, p. 117, 119 ; 1899).

portent à croire que, dans cette espèce, des intrus peuvent être acceptés dans le groupement, tout au moins lorsqu'une grande hâte préside à la rentrée.

Ces faits sont, à coup sûr, intéressants parce qu'ils indiquent une sociabilité naissante. Mais ils semblent bien loin encore de ceux qui caractérisent les Guêpes sociales et les autres Hyménoptères sociaux. Chez ces derniers, en effet, la vie sociale a pour point de départ essentiel les rapports qui s'établissent dans un nid entre la mère et ses enfants ; or, la mère des Philanthes périt à l'automne et sa progéniture quitte le cocon neuf mois plus tard, au cours de l'été suivant ; c'est une progéniture orpheline et les rapports qui s'y établissent n'ont rien de commun avec ceux qui permettent la formation de colonies chez les Hyménoptères sociaux.

CAMPAGNE D'EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE BIOLOGIQUE CONTRE LES *SCHISTOCERCA PEREGRINA*

DANS LA VALLÉE DE LA HAUTE TAFNA, COMMUNE MIXTE DE SEBDOU (DÉPARTEMENT D'ORAN)

EXISTENCE D'UNE ÉPIZOOTIE AUTOCHTONE VACCINANTE

(MAI, JUIN, JUILLET 1915)

par le Dr ÉTIENNE SERGENT.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

SOMMAIRE.

I. — *Description rapide de la région.*

II. — *Nombreuses pontes un peu partout.* Lorsque les criquets commencèrent à s'alimenter, survint à deux reprises une invasion de Sauterelles infectées, d'où furent isolés deux coccobacilles. Description.

III. — Le 23 mai, en possession du virus de d'Hérelle, on essaie de l'exalter au laboratoire. Aucun résultat jusqu'à la troisième mue chez des néo-mués soumis au jeûne.

IV. — *Essais de contamination* : 1° avec le virus de d'Hérelle: 2° avec le Coccobacille autochtone.

V. — *Observations diverses*, faites en mai, juin, juillet.

I. — La vallée de la haute Tafna, aux environs de Sebdou, où les observations furent faites, se trouve à l'altitude de 750 à 900 mètres. La vallée, de 1 à 2 kilomètres de large, est encaissée entre des montagnes s'élevant rapidement à 1.300, 1.400 mètres. Les cultures y sont rares (champs d'orge et jardins), et dans le fond de la vallée seulement. Des boisements de chênes, tuyas et genévriers couvrent encore une partie de la vallée. Les arbres forment des touffes épaisses, entre lesquelles des sentiers de chèvres permettent de circuler. Les arbres de haute futaie sont rares; de grosses touffes de lentisques impénétrables, de 15 à 20 mètres de diamètre, sont disséminées au milieu des arbres. Les montagnes sont, en grande partie, boisées et très rocailleuses, les pentes sont très raides.

Je tiens à remercier ici très vivement M. Tondu, adminis-

trateur de la commune mixte de Sebdou, de l'aide précieuse qu'il a bien voulu me donner pendant les deux mois et demi qu'ont duré mes recherches. J'ai pu ainsi profiter de sa grande expérience en ce qui concerne les invasions de Sauterelles.

Au début du mois de mars, M. Tondu avait signalé à l'Institut Pasteur d'Algérie de nombreux cas de mort chez les Sauterelles venant du Sud et avait envoyé à l'Institut Pasteur quelques-uns de ces insectes. De leur contenu intestinal fut isolé un coccobacille.

II. — De nombreuses pontes de *Schistocerca* ayant eu lieu le 28 mars, surtout dans la forêt et la vallée, on ne constata les premières éclosions que le 15 mai (49 jours d'incubation).

Le 22 *mai*, c'est-à-dire au moment où il était constaté que les criquets commençaient à s'alimenter, survint une invasion de *Sauterelles venant du Sud-Est* (1).

C'est alors que l'on observa le fait suivant, qui se rattache probablement à l'épizootie signalée par M. Tondu : ces Sauterelles présentaient les symptômes caractéristiques de la diarrhée noire due au coccobacille de d'Hérelle. En pressant l'abdomen de certaines d'entre elles, on faisait sourdre une goutte de liquide noir, gluant.

Les 22, 23 et 24 mai, la proportion de Sauterelles infectées fut, respectivement, de 15 p. 100, 5 p. 100 et 2 p. 100. A partir du 24 mai, un grand nombre de Sauterelles furent trouvées mortes dans les champs, presque toutes présentant la goutte noire.

Une deuxième invasion de Sauterelles survint ensuite, le 29 mai, toujours venant du *Sud-Est*. La même infection fut observée; la proportion de Sauterelles infectées varia, le 30 mai et le 1er juin, entre 3 p. 100 et 19 p. 100. Comme pour la première invasion, l'on vit ces Sauterelles mourir en très grand nombre dans les champs, présentant presque toutes la goutte noire.

Pendant ce temps, les criquets, qui n'avaient pas présenté de goutte noire jusqu'alors, montrèrent, le 1er juin seulement, une

(1) Beaucoup plus de mâles que de femelles : 20 Othman pour 3 Aïcha, comme disent les Arabes.

proportion de 5 p. 100 de gouttes noires. A partir de ce moment, toutes les bandes de criquets observées dans la région, dans un périmètre de 30 kilomètres de diamètre, ont présenté, jusqu'à leur envol, après la métamorphose, un pourcentage de gouttes noires variant entre 1 et 15; il ne s'abaissait à 0 que pendant 1 ou 2 jours, pour se relever au 3e jour. Jamais on ne constata de mortalité. C'est donc une infection bénigne.

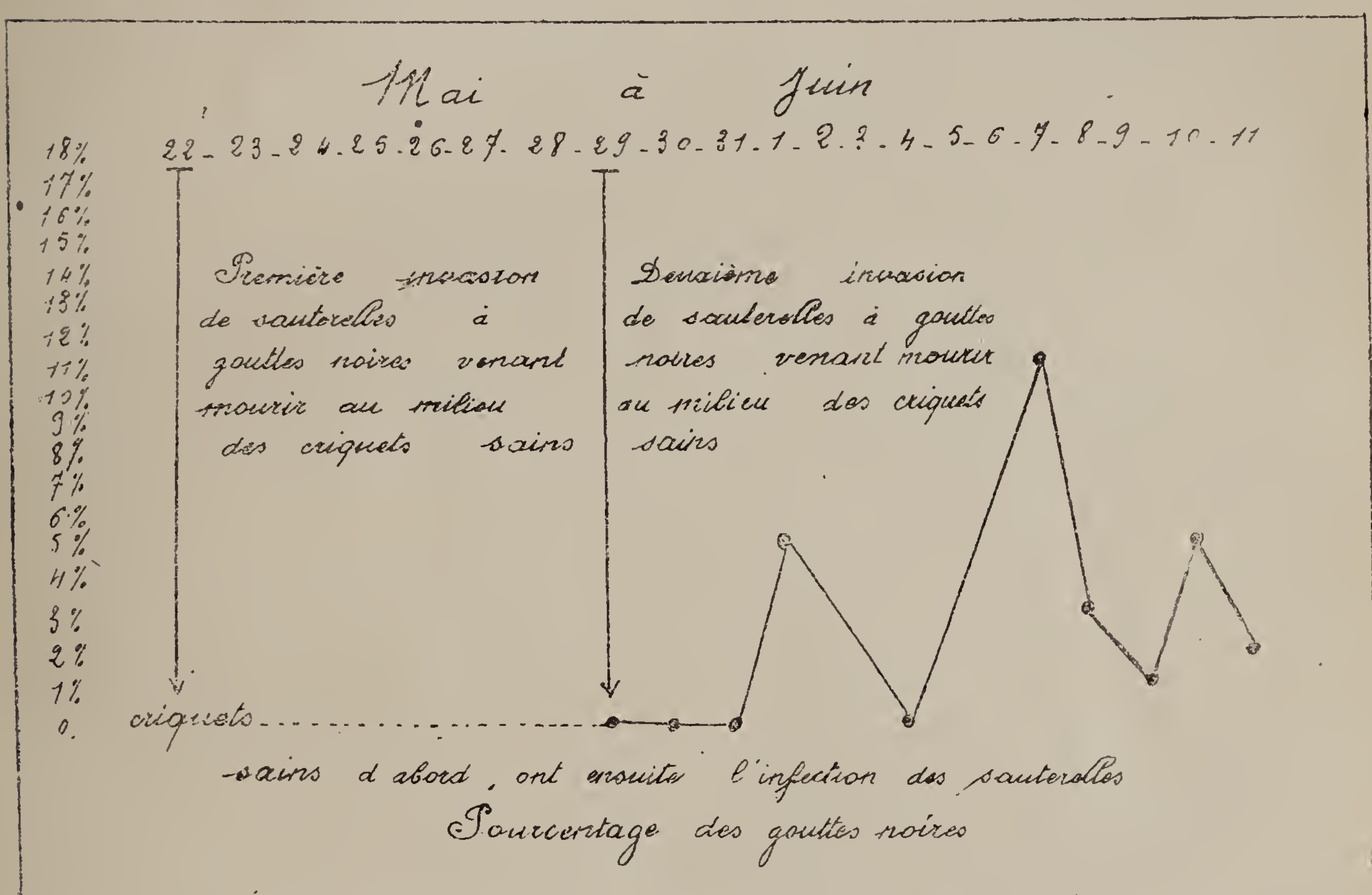


FIG. 1. — Tableau montrant l'infection à goutte noire des criquets, succédant aux invasions de Sauterelles malades.

Le 17 et le 19 juin, des criquets à goutte noire, mis en cage, moururent à peu près aussi vite que des criquets sans goutte noire placés dans une cage témoin (mais la pression exercée sur l'abdomen pour l'examen a pu les estropier et hâter la mort des uns comme des autres).

Le 20 juin, 50 criquets, faisant partie d'une bande à 4 p. 100 de gouttes noires, sont placés dans une boîte en fer-blanc fermée. Le lendemain, 30 sont morts; 13 d'entre eux ont eu la goutte noire caractéristique. Le 5 juillet, 30 criquets d'une bande à 2 p. 100 de gouttes noires sont placés dans une boîte en fer-blanc. 36 heures après, tous sont morts : 29 gouttes noires sur 30.

L'examen direct, au microscope, des gouttes noires des Sauterelles et des criquets ne révéla rien. Mais l'ensemencement sur gélose inclinée mit en évidence deux sortes de coccobacilles :

1° Un gros coccobacille, mobile, gram-négatif, donnant des

colonies opaques sur gélose, et fleurant bon en bouillon; fait fermenter le glucose, le maltose, le saccharose ;

2° Un coccobacille de taille plus petite, mobile, donnant des colonies bleuâtres semi-transparentes sur gélose, et fleurant bon en bouillon, fait fermenter les mêmes sucres.

Par ces caractères, le premier diffère du gros coccobacille saprophyte signalé par d'Hérelle. Il pousse plus abondamment en gélose que le second. Ce dernier a les mêmes caractères que certaines races du virus de d'Hérelle.

Ces deux virus furent isolés des gouttes noires de criquets neufs aussi bien que des gouttes noires des Sauterelles.

L'étude expérimentale de ces virus sera traitée plus loin.

III. — A) Le 24 mai, parvint au laboratoire installé au Matmor des Bni-Hédiel, près de Sebdou, le virus de d'Hérelle exalté à Barika. On commença par essayer d'exalter ce virus par passages sur les criquets de la région, dont les plus vieux à ce moment étaient déjà âgés de 7 à 8 jours.

On a constamment pratiqué les passages *alternatifs* (criquets-gélose). Les gouttes noires fécales des criquets morts ou agonisants ne nous ont jamais montré de culture abondante ni pure. Au contraire, le liquide de la cavité générale, obtenu en sectionnant une patte postérieure de l'insecte, nous a toujours montré une culture riche et presque pure.

Pour inoculer les criquets, nous avons adopté la méthode consistant à pousser la pipette dans la direction de l'extrémité postérieure de l'abdomen, plutôt que dans la direction de la tête, la carapace chitineuse n'étant pas assez dure chez le criquet pour opposer un point d'appui suffisant, comme c'est le cas pour les Sauterelles.

189 passages alternatifs (criquets-gélose) furent faits, depuis le 24 mai jusqu'au 7 juillet, au moyen de 13 envois successifs du coccobacille de d'Hérelle.

Aucune exaltation suffisante ne fut obtenue, jusqu'au moment où l'on se servit de criquets *ayant subi la troisième mue* (c'est-à-dire âgés d'au moins 22 jours) *et à jeun depuis* 1 *ou* 2 *jours* (1).

(1) La coïncidence suivante fut notée : le pourcentage des gouttes noires chez les criquets neufs fut très faible immédiatement après la troisième mue, c'est-à-dire au moment où ils devenaient sensibles, en cage, au virus de d'Hérelle.

Au cours de ces passages, le coccobacille d'Hérelle, très polymorphe, a montré des variations considérables de taille.

A ce moment, le virus tua les criquets en 5-6 heures et demie. C'est alors que les premiers essais de contamination furent tentés sur des bandes libres.

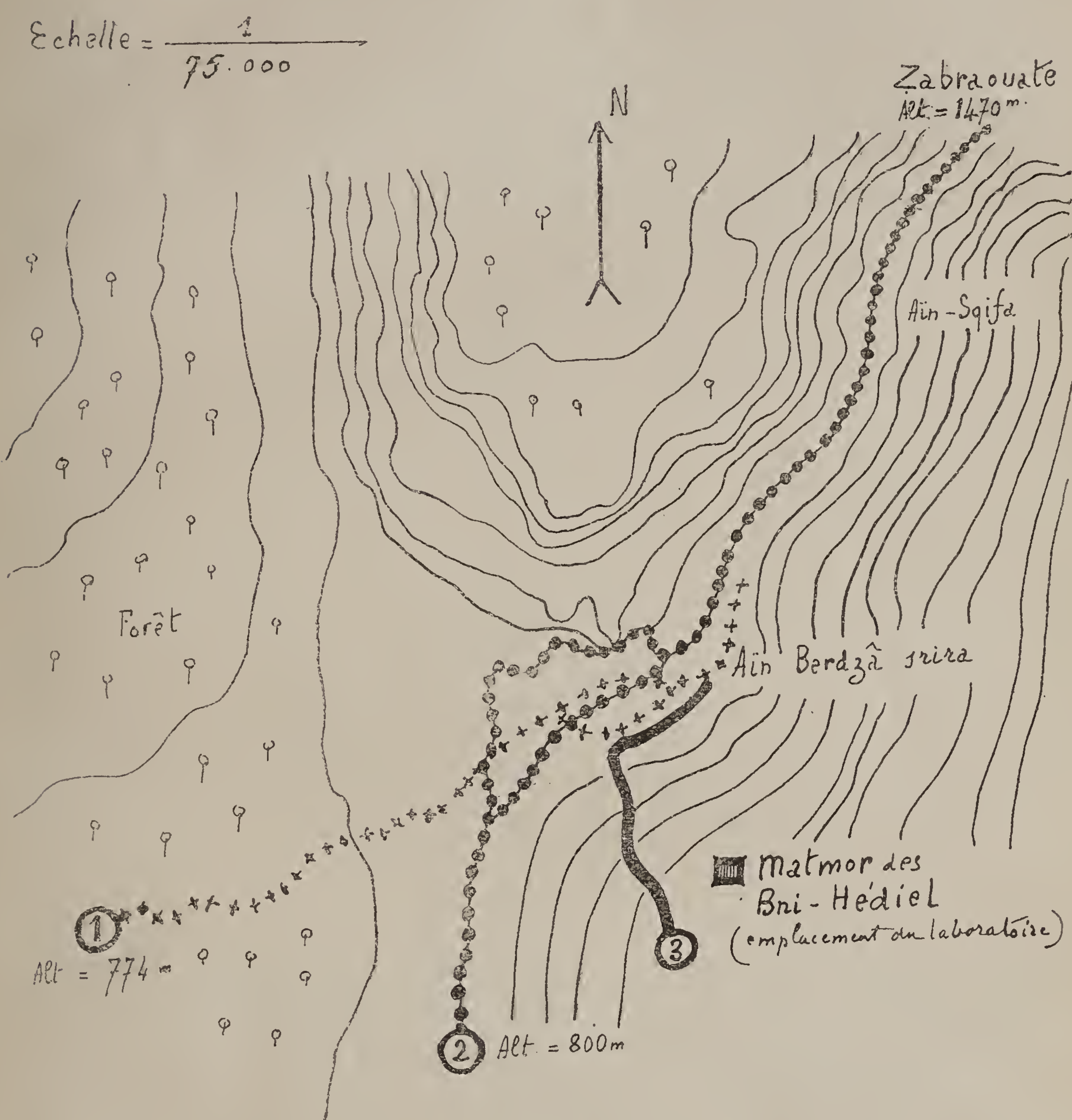


Fig. 2.

Trajet parcouru par les trois bandes de criquets en observation.

IV. — *Bande* 2. La bande 2, très dense, couvre environ 2 hectares, est composée de criquets âgés de 37 à 40 jours (stade V), ayant 1 p. 100 de gouttes noires. Elle est en terrain découvert, parsemé de touffes de palmiers nains, de jujubiers sauvages, et de quelques buissons de chênes. Ces plantes, où les criquets se rassemblent au crépuscule, sont très copieuse-

ment aspergées 3 jours de suite : les 21, 22 et 23 juin, avec un virus tuant en 5 heures les criquets en cage, au bout de 2 passages (1 par criquets, 1 par gélose), (5, 6 et 15 bouteilles de 700 grammes de bouillon ensemencé depuis 24 heures).

La bande suivit le trajet indiqué dans le croquis 2, gagna rapidement la montagne boisée et escalada un massif montagneux de 1.470 mètres de haut (le point où l'aspersion fut faite étant à l'altitude de 800 mètres environ). Elle s'augmenta en route de plusieurs petites bandes. Arrivés à 1.470 mètres, les

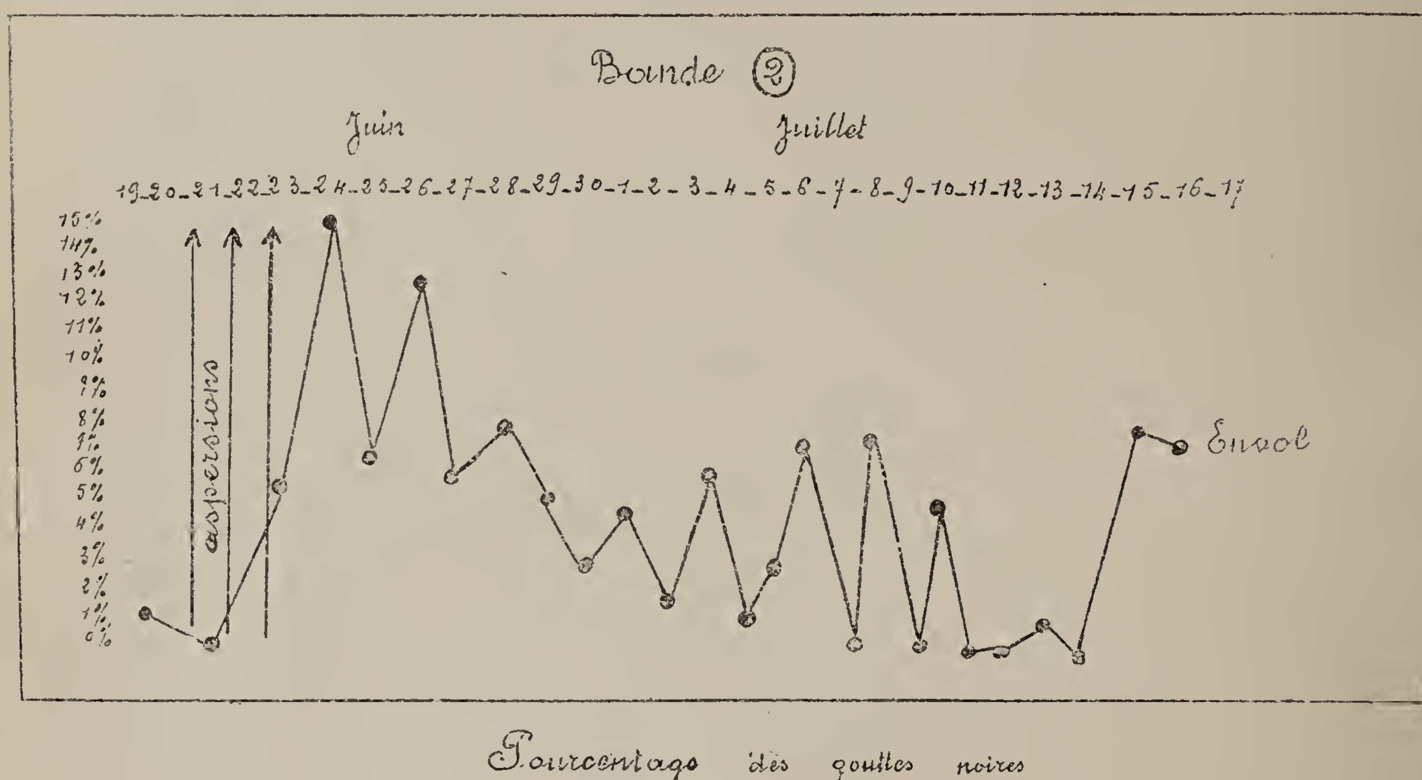


Fig. 3.

Schistocerca, transformés depuis plusieurs jours en insectes ailés, prirent leur vol le 16 juillet. Ils avaient été suivis jour par jour et examinés selon la méthode indiquée par d'Hérelle : examen quotidien de 100 sujets prélevés en des points différents de la bande. Comme le montre le graphique 3, le pourcentage des gouttes varie entre 0 et 15, c'est la proportion qui a été trouvée pendant la même saison parmi les bandes neuves. Aucune mortalité ne fut constatée.

Bande 3. — Elle occupe un jardin de figuiers, d'oliviers, où les feuilles de figuier sont en grande partie rongées déjà, et un terrain découvert parsemé de palmiers nains. Les feuilles de ces arbres, recouvertes de criquets, sont copieusement aspergées 2 jours de suite, le 5 et le 6 juillet (virus tuant en 5 heures

et demie), (10 et 12 bouteilles de 700 grammes de bouillon ensemencé depuis 24 heures).

La bande 3 suivit le trajet indiqué dans le croquis 2, franchit un ravin et s'arrêta dans un jardin de figuiers où les cri-

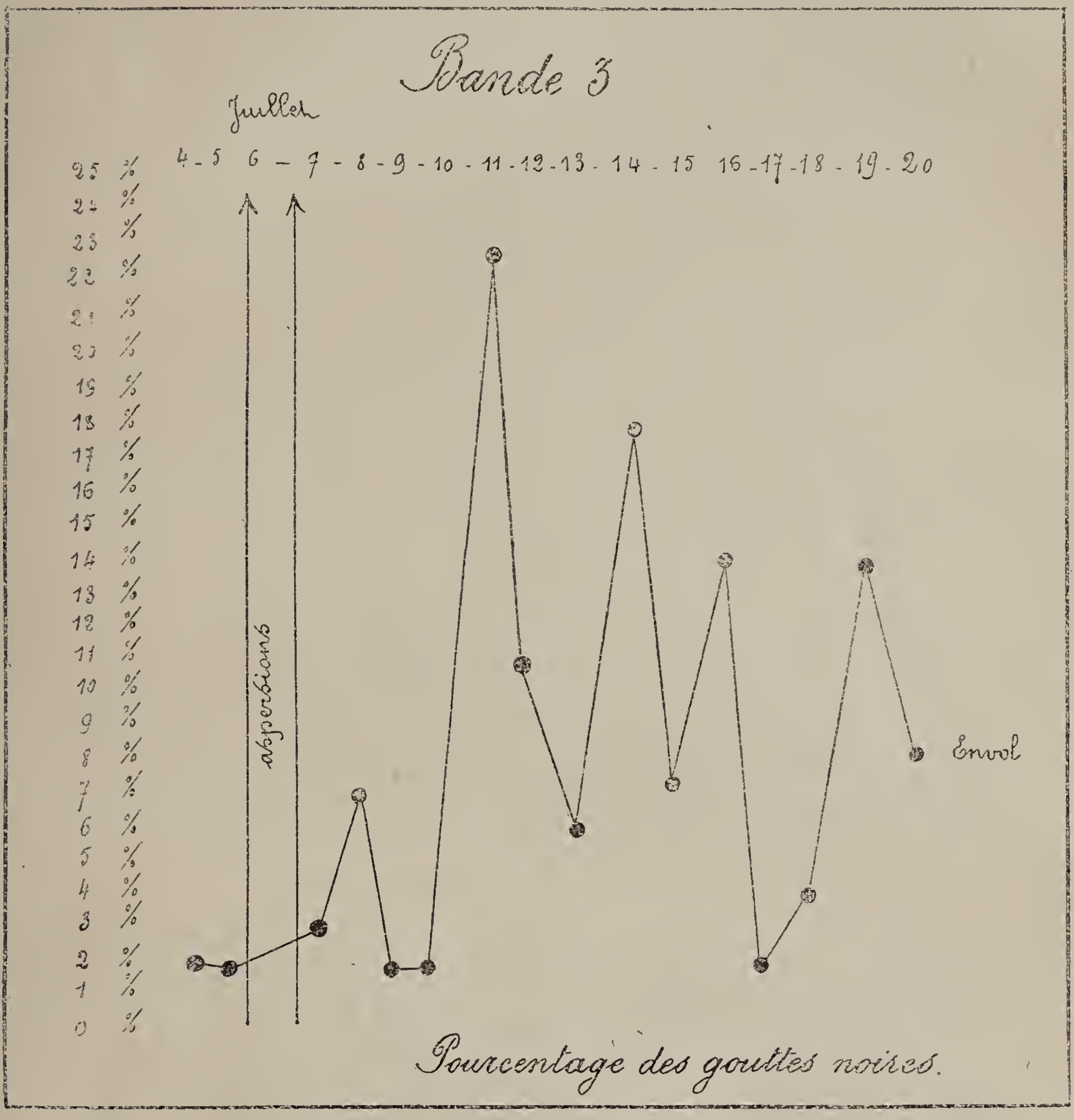


Fig. 4.

quets se métamorphosèrent. Cette bande fut suivie pendant 15 jours de suite après l'aspersion : l'examen quotidien du contenu intestinal montre que le pourcentage des gouttes noires varie entre 2 et 23, pendant les 15 jours que dure la poursuite. Le 12 juillet (7 jours après la première aspersion), on constata de *très rares* criquets morts au pied des arbres, tous ayant la goutte noire. C'était le lendemain du jour où le

pourcentage des gouttes noires s'était élevé au plus haut point : 23 p. 100! Puis l'on ne constata plus aucune mortalité, en même temps que l'on remarquait l'abaissement de la proportion des gouttes noires.

B) Un essai de contamination des criquets libres, par le gros coccobacille isolé de gouttes noires de criquet neuf (voir plus haut) fut tenté, dès que la virulence fut assez forte. Comme pour le coccobacille de d'Hérelle, on ne put tuer les

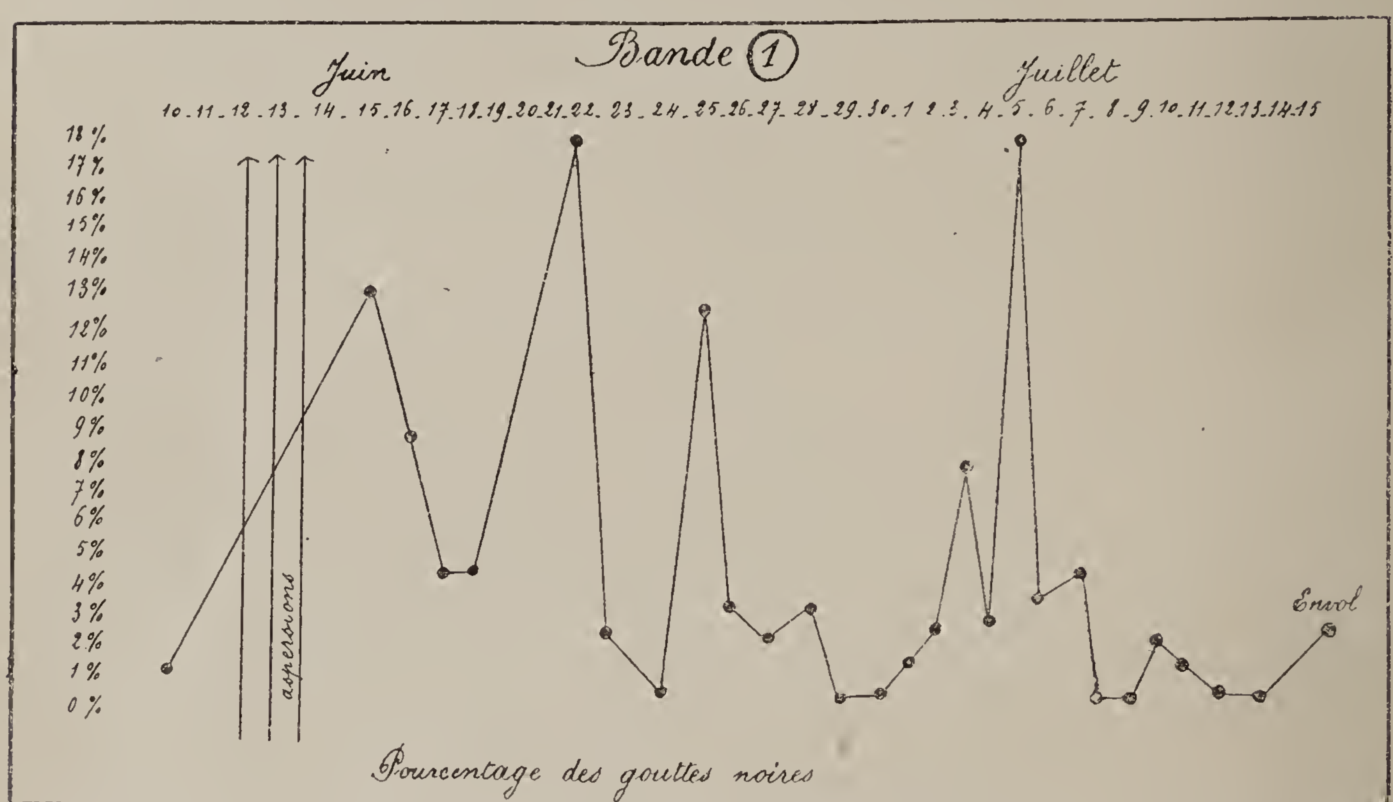


FIG. 5.

criquets en cage que lorsque l'on employa des criquets ayant subi la troisième mue, et à jeun depuis 1 ou 2 jours. On arriva ainsi à tuer régulièrement en 1-2 heures! Au bout de ce temps invraisemblablement court, les criquets présentaient *tous* la goutte noire, et des coccobacilles très mobiles en culture pure dans la cavité générale.

Bande 1. — La bande 1, très dense, couvre un hectare environ, en forêt. Elle est composée de criquets âgés de 29 à 30 jours (stade IV) ayant 2 p. 100 de gouttes noires.

Pour faciliter la contamination, des rameaux de vigne, cueillis à l'oued voisin, sont placés au pied des buissons de chênes et de lentisques que les criquets grignotent seulement. L'aspersion des plantes où les criquets se sont réfugiés le soir

est très copieuse : les 12, 13, 14 juin (10, 5 et 6 bouteilles de 700 grammes de bouillon ensemencé depuis 24 heures).

La bande 1 fut suivie pas à pas pendant 34 jours consécutifs à travers la forêt et en montagne (planche 2). Comme le montre le graphique 5, le pourcentage des gouttes noires ne s'éleva pas à plus de 18, pour redescendre 3 fois à 0. Aucune mortalité ne fut constatée.

Il y a lieu de penser que ce gros coccobacille, déterminant une infection faible chez les criquets, les a vaccinés contre cette même infection, même exaltée à un haut degré.

Conclusions.

Le *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle n'a pas donné d'infection mortelle aux criquets de la région de Sebdou. Une infection épidémique autochtone, due à la présence de deux virus différents, tous deux du même groupe microbien que le virus de d'Hérelle, a été constatée dans cette région, chez les sauterelles puis chez les criquets.

Il y a lieu de penser que cette infection autochtone, peu meurtrière pour les criquets, les a vaccinés contre le virus américain.

La méthode biologique n'a donné aucun résultat dans cette région, en 1915.

*
* *

V. — Observations diverses faites sur les Schistocerca dans la vallée de la haute Tafna (Commune mixte de Sebdou) aux Matmor des Bni-Hédiel *en mai, juin, juillet 1915.*

Vitesse de la marche des bandes de criquets. — La vitesse de la marche des criquets, la distance parcourue quotidiennement dépendent de plusieurs facteurs dont le principal est incontestablement la chaleur par ciel clair.

D'autre part, j'ai observé à Sebdou que la vitesse de marche des criquets est en raison directe de la densité et de l'étendue de la bande, en un mot, du nombre de criquets réunis.

Premier exemple. — En mai 1915, une bande très dense et couvrant une dizaine d'hectares, composée de criquets âgés les uns de 3 jours et les autres

de 22 jours, a, en 3 jours, franchi une forêt (de chênes, tuyas et genévriers, parsemés de buissons de lentisques épais, de 15 à 20 mètres de diamètre), sur une longueur de 2 kilomètres environ et escaladé une montagne rocheuse et boisée sur une longueur de 3 kilomètres environ, s'élevant ainsi en altitude de près de 200 mètres, par des températures, prises à l'ombre au laboratoire + 16°, + 26°. Alors que, en juillet, par des températures (à l'ombre, au laboratoire), variant de 25° à 32°, des bandes couvrant 1 à 2 hectares seulement, composées de criquets au dernier stade, ne franchissaient en terrain

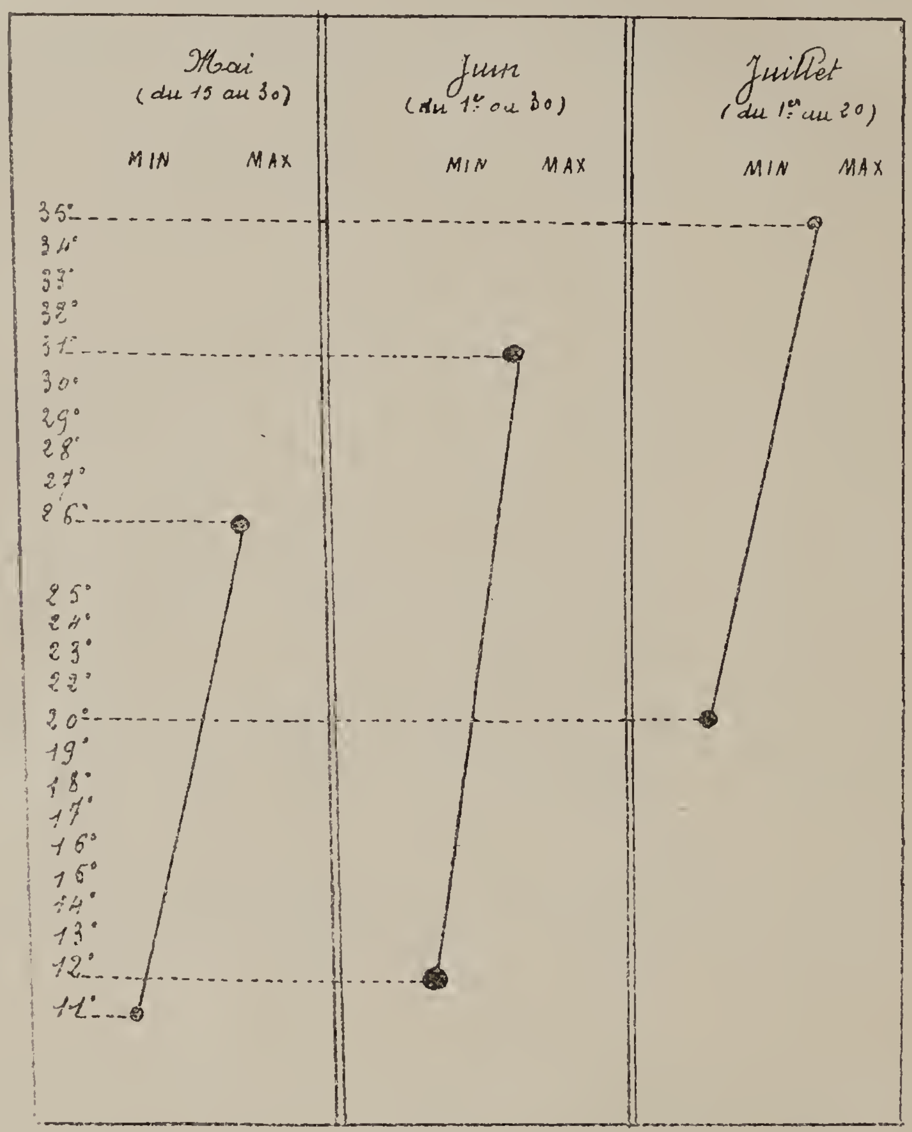


Fig. 6. — Températures *maxima* et *minima* relevées aux Matmor des Bni-Hédiel, en mai, juin et juillet 1915.

découvert, plat et sans végétation autre que quelques touffes de palmiers nains, que 300, 200 mètres, ou même 100 mètres seulement en un jour.

Les « formations serrées » semblent constituer une condition favorisante pour la rapidité de l'invasion, telle que l'ont comprise, instinctivement sans doute, les peuples envahisseurs : c'est une *question de masse*.

Deuxième exemple. — En juin, la bande **2**, couvrant à ce moment 5 à 6 hectares, se dirige vers une montagne s'élevant à 250 mètres au-dessus de la vallée. Au pied de la montagne rocheuse et boisée, elle se divise en deux bandes

Observations diverses faites sur les *Schistocerca peregrina*, dans la vallée de la Haute Tafna (commune mixte de Sebdou), en mai, juin, juillet 1915.

	DURÉE MINIMA	DATES	ASPECT		A PARTIR DU :	DATES
Premiers accouplements	4 jours.	Du 24 au 28 mars.				
Premières pontes	....	28 mars.				
Premières éclosions des criquets	....	15 mai.				
Incubation des œufs	49 jours.	28 mars au 15 mai.				
Stade I	Quelques moments.	....	Blancs.	Se dépouillent de leur peau, qu'on retrouve au fond de l'épi d'œufs ou sur le sol au voisinage du trou de ponte.		
Première mue	....	15 mai.				
Stade II	7 jours.	....	Ils deviennent noirs.	Sautillent sur place, commencent à grignoter.	5e jour.	21 mai.
Deuxième mue	....	22 mai.				
Stade III (du 1er au 6 juin, température inférieure à +20 degrés)	15 jours.	....	Les dessins rose clair apparaissent. Le prothorax (couvre-nuque) n'a pas de pointe en arrière sur le dos.	Se rassemblent, grignotent, se dirigent vers l'est.	14e jour.	29 mai.
Troisième mue	....	6 juin.				
Stade IV	9 jours.	....	Les dessins clairs deviennent plus gros. Le couvre-nuque commence à se prolonger en pointe en arrière sur le dos.	Ruée irrésistible vers le nord-est.	23e jour.	7 juin.
Quatrième mue	....	15 juin.				
Stade V	9 jours.	....	Les dessins roses deviennent jaunes ; ailerons plus courts que le couvre-nuque.	Franchissent 50 mètres à 1.500 mètres par jour, selon les bandes, vers le nord et le nord-est.	31e jour.	15 juin.
Cinquième mue	....	24 juin.				
Stade VI	12 jours.	....	Ailerons égaux ou plus longs que le couvre-nuque.	Franchissent jusqu'à 2 kilomètres par jour, mangent beaucoup, mais ne dévorent pas toute la végétation rencontrée.	40e jour.	24 juin.
Sixième mue	....	6 juillet.				
Les criquets se métamorphosent en Sauterelles roses				Restent quelques jours au milieu des criquets, puis s'envolent vers l'ouest, à partir du 5.	59e jour.	15 juill.

d'inégale importance : la plus grande (presque le double) gagne rapidement le sommet, descend dans des ravins touffus et inextricables, remonte sur la crête de plusieurs contreforts, redescend enfin à 3 kilomètres environ de son point de départ, dans la vallée encaissée de l'oued, où elle retrouve, pour se mélanger à elle, sa bande sœur, plus petite, qui a franchi un trajet 3 fois moindre à mi-flanc de la montagne.

Troisième exemple. — La même bande **2** reconstituée et grossie tout le long de la vallée de l'oued Berdzâ, par l'adjonction de plusieurs petites bandes erratiques, escalade en 1 jour, sur un trajet de 2 kilomètres environ, plusieurs ravins boisés et escarpements rocheux et boisés dans une contrée très accidentée. Les 2 jours suivants, elle est parvenue sur un plateau dénudé, champ d'orge déjà moissonné ; elle se divise alors en plusieurs petites bandes qui mettent 2 jours pour franchir 800 mètres.



Fig. 7.

Quatrième exemple. — En forêt, il nous a été donné, en mai et en juin, de suivre pendant des semaines, pas à pas, de petites bandes de tout âge qui erraient de buissons en buissons, d'arbre en arbre, sans direction nette, tandis que de grandes bandes du même âge, dans la forêt voisine, marchaient droit vers le nord-est en une ruée irrésistible, traversant les sentiers, passant au travers des touffes de lentisques, sans arrêt.

Influence du vent sur la direction de la marche des criquets. — Les vents peuvent avoir une influence, mais tout à fait restreinte, sur la direction des bandes de criquets.

Pendant le mois de juin, le vent du matin soufflait du sud-ouest, et à partir de 11 heures, du nord-est. Les bandes de criquets, dont la direction générale était le nord-est, marchaient rapidement le matin, dès 8 ou 9 heures, puis, le soir, rebroussaient chemin ou s'arrêtaient dans les buissons. Alors que le matin la direction du vent favorisait leur instinct, le soir leur marche était contrariée.

Les criquets suivent les sentiers. — Observation confirmée plusieurs fois, et infirmée plusieurs fois.

Un chemin sert souvent d'axe directeur à une bande ; on voit la tête de

ligne sur le chemin, tandis que les ailes droite et gauche suivent, un peu en retard, la même direction. 5 jours de suite, sur le même chemin, aux Matmor, cette observation a été faite (fig. 7).

D'autre part, aux mêmes époques, j'ai vu des bandes aux mêmes stades franchir délibérément sentiers, lits d'oueds secs, sans aucune hésitation.

Criquets tournant en cercle. — Observation faite le 18 juin 1915, à midi, dans la forêt de Guern Louz :

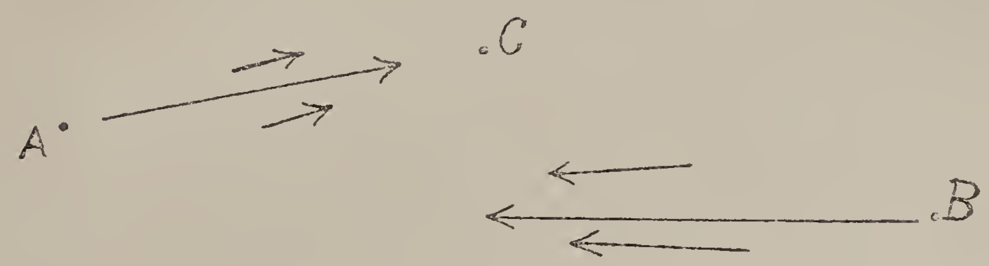


Fig. 8.

Deux buissons de chênes A et B (fig. 8 et 9) sont distants l'un de l'autre de 20 mètres. De chacun de ces buissons partent respectivement deux petites bandes de criquets à peu près égales, dans deux directions opposées l'une à l'autre, et parallèles, à environ $1^{m}50$ l'une de l'autre.

Arrivés au point C, quelques criquets de l'aile droite de la bande A rencontrent l'aile droite de la bande B. Ils s'arrêtent, puis, voyant ceux de la bande B continuer leur marche, ils font demi-tour et emboîtent le pas à la bande B. Tous ceux de la bande A font de même, puis, arrivant vers le point A, retournent en suivant la direction A C. Ils parcourent ainsi un grand nombre de fois un ovale allongé (fig. 9) de 15 mètres de long sur 3 à 4 mètres de large, régulièrement pendant 40 minutes, sans qu'aucun criquet ne sorte du stade. Finalement ils s'arrêtèrent par petits paquets vers le point D, et le cercle continua quelques minutes encore entre C, B et D.

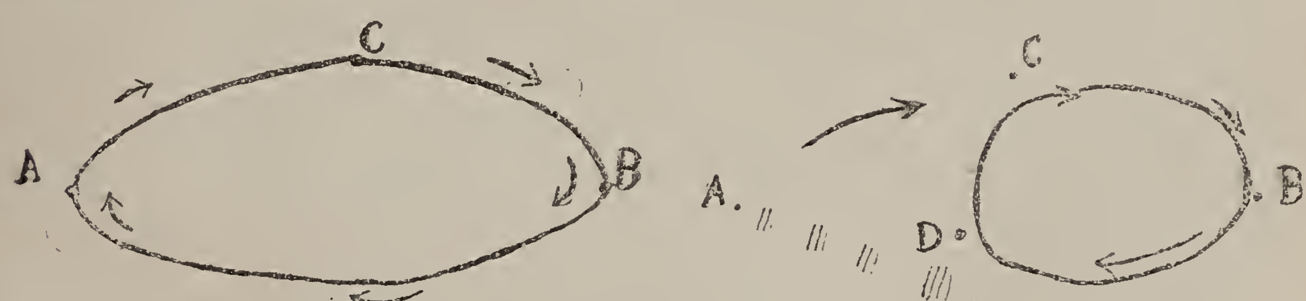


Fig. 9.

Direction générale. — Les bandes observées dans la haute vallée de la Tafna, après avoir erré ou sautillé sur place, se sont, *en général*, après la deuxième mue, dirigées vers le nord-est, mais sans aucune précision.

Très souvent une bande tournait brusquement à l'ouest sans raison apparente, et j'ai vu des bandes compactes, au dernier stade, couvrant 7 à 8 hectares, marcher directement vers le sud plusieurs jours de suite.

Influence de la végétation sur la marche des criquets. — Elle ne m'a pas paru prépondérante. J'ai vu avec étonnement des bandes de criquets, au deuxième comme au dernier stade, passer à proximité de jardins appétissants sans y pénétrer ou, s'ils les côtoyaient, grignoter quelques feuilles pour se diriger rapidement plus loin.

La vitesse de la marche en forêt n'est pas beaucoup plus lente qu'en terrain découvert, elle m'a paru dépendre de la masse de la bande.

Moments de la marche. — En mai et juin, les criquets ne commençaient à se mettre en marche qu'à 8 ou 9 heures, des brouillards, très fréquents dans la vallée de la haute Tafna, couvrant le ciel dans la matinée.

Le 5 juillet, journée de grand sirocco, les criquets ont commencé à marcher, avec rapidité, dès 5 heures du matin, et à *20 heures*, ils étaient encore en colonne, marchant encore avec vitesse, dépassant les buissons sans s'y arrêter.

Pendant la nuit de *pleine lune* du 29 au 30 mai 1915, aux Bni-Hédiel, une forte bande de criquets âgés de 15 jours, dont le front avait été repéré la veille au soir, a été retrouvée exactement à la même place le lendemain avant l'aube.

Instinct de la pérégrination. — Vers le 15e jour de leur éclosion les criquets se sont réunis en bandes compactes, couvrant plusieurs hectares, et ont commencé à marcher dans une direction précise (vers le nord-est). Leur préoccupation paraissait être non pas la recherche de la nourriture, mais d'avancer, d'avancer, négligeant les cultures voisines, grignotant seulement, au hasard de la rencontre, quelques épis d'orge des champs voisins.

Même à un stade avancé (avant-dernier et dernier), des bandes sont passées à 50 mètres de jardins de figuiers et de vigne, sans faire un détour. 10 jours après, ces mêmes bandes se trouvaient à 7 à 8 kilomètres de ces jardins, n'ayant eu pour nourriture que des feuilles de palmiers-nains et de chênes.

D'autres bandes ayant trouvé ces jardins sur leur passage y sont restées pendant tout ce temps, une nourriture abondante s'y trouvant rassemblée.

C'est surtout l'instinct de la pérégrination qui semblait les pousser et non le besoin de la nourriture.

Rôle possible des adultes qui viennent s'abattre au milieu des

bandes de criquets. — Il a semblé que les Sauterelles qui ont envahi la région de Sebdou à la fin de mai, se sont abattues de préférence aux abords ou au milieu des bandes de criquets, alors âgés d'une semaine ou deux. Les mâles paraissaient impassibles, les femelles légèrement agitées; elles manœuvraient leurs antennes, semblant converser avec les criquets, en allant de groupe en groupe.

De temps en temps une Sauterelle sort des lignes, vole en faisant des cercles, puis retombe, tel un avion qui repérerait la marche de l'armée.

Voracité des criquets. Dévastation des cultures. — J'ai vu des bandes très denses, composées à parties égales de criquets au dernier stade et de jeunes Sauterelles roses, *couvrir complètement*, pendant vingt-quatre heures, tous les arbres d'un jardin de figuiers, vignes, grenadiers, pêchers, amandiers, et le lendemain *s'éloigner* (sans qu'on les en ait chassées d'une façon spéciale), n'ayant dévoré qu'un quart environ de la végétation.

Des champs d'orge rencontrés par des bandes au troisième stade ont été grignotés seulement. Une partie du champ envahi n'offre plus, le lendemain du passage des criquets, que l'épi droit sur sa tige sans feuilles, les barbes coupées. Le reste du champ est resté presque indemne.

Sauterelles jeunes jaunes (*mâles et femelles*). — Chez les Sauterelles nouvellement métamorphosées, on a constaté, les premiers jours qui suivirent le moment de la métamorphose, quelques Sauterelles (rares) *jaune clair.*

Tous les téguments et les ailes sont d'un jaune pâle; le lendemain, les ailes deviennent roses et, le surlendemain, l'insecte a le même aspect que les autres; mais, pendant 2 jours, on distinguait très facilement des Sauterelles jaunes volant au milieu des roses. (Des femelles aussi bien que des mâles ont présenté cette particularité passagère, et dans les bandes aspergées comme dans les bandes témoins : d'ailleurs, chez toutes les bandes on a trouvé l'infection à goutte noire).

Variations de taille. — Dans les bandes de Sauterelles roses métamorphosées dans la vallée de la haute Tafna, on a constaté quelques variations de taille allant de 54 à 75 millimètres.

Parasites et ennemis des criquets. — Une mygale a été vue entraînant dans sa loge un criquet vivant.

Oiseaux : Tous les oiseaux de la région ont été vus assail-

lant les criquets à coups de bec : merle, pinson, moineau, huppe, rollier, geai, pie-grièche, tourterelle, palombe.

Plantes dévorées par les criquets. — Toutes les plantes de la région ont été attaquées par les criquets. Il faut en excepter le tuya, le figuier de Barbarie et le laurier-rose. Pourtant, il a été recueilli quelques feuilles fraîchement rongées sur un buisson de laurier-rose, où les criquets avaient passé la nuit (au 6e stade). Comme feuilles amères ou toxiques que les criquets dévorent : le scille maritime, le noyer, le thapsia. Les feuilles épineuses des genévriers ont été très peu rongées.

Parasites des œufs et des criquets. — *En mai* : Nombreuses pupes d'*Anthomyia*.

Autres parasites : Larves de *Cebrio* et d'*Anthrax fenestrata*.

En juin : Nombreuses pupes d'*Idia fasciata*.

Nombreuses larves et adultes de *Staphylins*.

Nombreux *Oligochètes*.

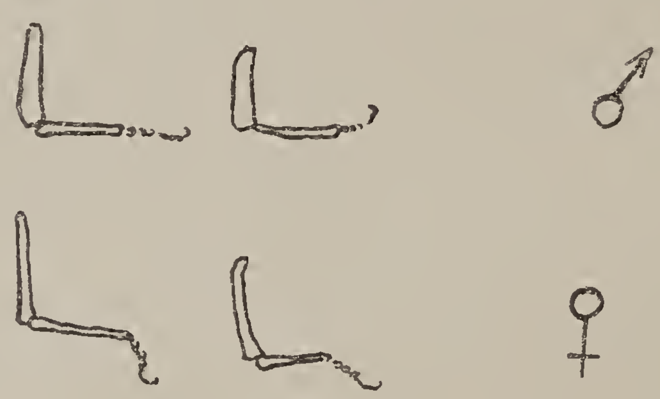


Fig. 10. — Pattes antérieures du mâle et de la femelle de *Schistocerca peregrina*.

Caractère anatomique, non signalé, différent chez le mâle et chez la femelle. — Les pattes de la première et de la deuxième paire des Sauterelles mâles ont leur premier article sensiblement plus épais que chez la femelle. Cela tient à un besoin fonctionnel : pendant la pariade et l'accouplement, le mâle a besoin de muscles puissants pour maintenir la femelle. Ce caractère est apparent déjà au dernier stade des criquets.

CAMPAGNE D'EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE BIOLOGIQUE CONTRE LES *SCHISTOCERCA PEREGRINA* EN ALGÉRIE, DE DÉCEMBRE 1914 A JUILLET 1915 ET EN PARTICULIER DANS LA RÉGION DE BARIKA (DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE)

par le Dr M. BÉGUET.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

I

Marche de l'invasion.

Nées au Soudan, très probablement dans la région de l'Aïr, au printemps de 1914, les *Schistocerca peregrina* Ol. atteignirent vers la fin de juin les régions du Mouydir et du Tidikelt. Dès le début elles prirent la direction du Nord et, en survolant la ligne des oasis du Touat et du Gourara, atteignirent le Grand Erg en automne, sans avoir pondu ni commis de grands dégâts. Vers la fin d'octobre, elles se divisèrent en deux colonnes, une qui devait suivre la vallée de la Saoura vers Beni-Abbès et Colomb Bechar, et l'autre qui par El-Goléah devait gagner le Mzab, le Souf et le Sud tunisien.

Au début de novembre, enfin, elles étaient déployées sur une ligne de plus de mille kilomètres, menaçant le Maroc par le Tafilalet, le Sud algérien par Beni-Ounif, El-Abiod Sidi Cheikh, Ghardaïa et Touggourt, et se préparant à envahir la Tunisie par les régions basses et désertiques du Chott Djerid.

En décembre, ces vols vinrent se buter contre la barrière formée par l'Atlas saharien. A cette époque, les montagnes qui bordent au sud les Hauts Plateaux forment une barrière infranchissable, à cause de la différence brusque de température qu'on y rencontre lorsqu'on vient du Sahara. Gênées par le froid déjà

très vif les Sauterelles durent pendant tout l'hiver se contenter de parcourir par grands vols erratiques les espaces qui s'étendent au sud de l'Atlas saharien, se massant surtout dans les régions de Laghouat et de Biskra, pour le Sud algérien.

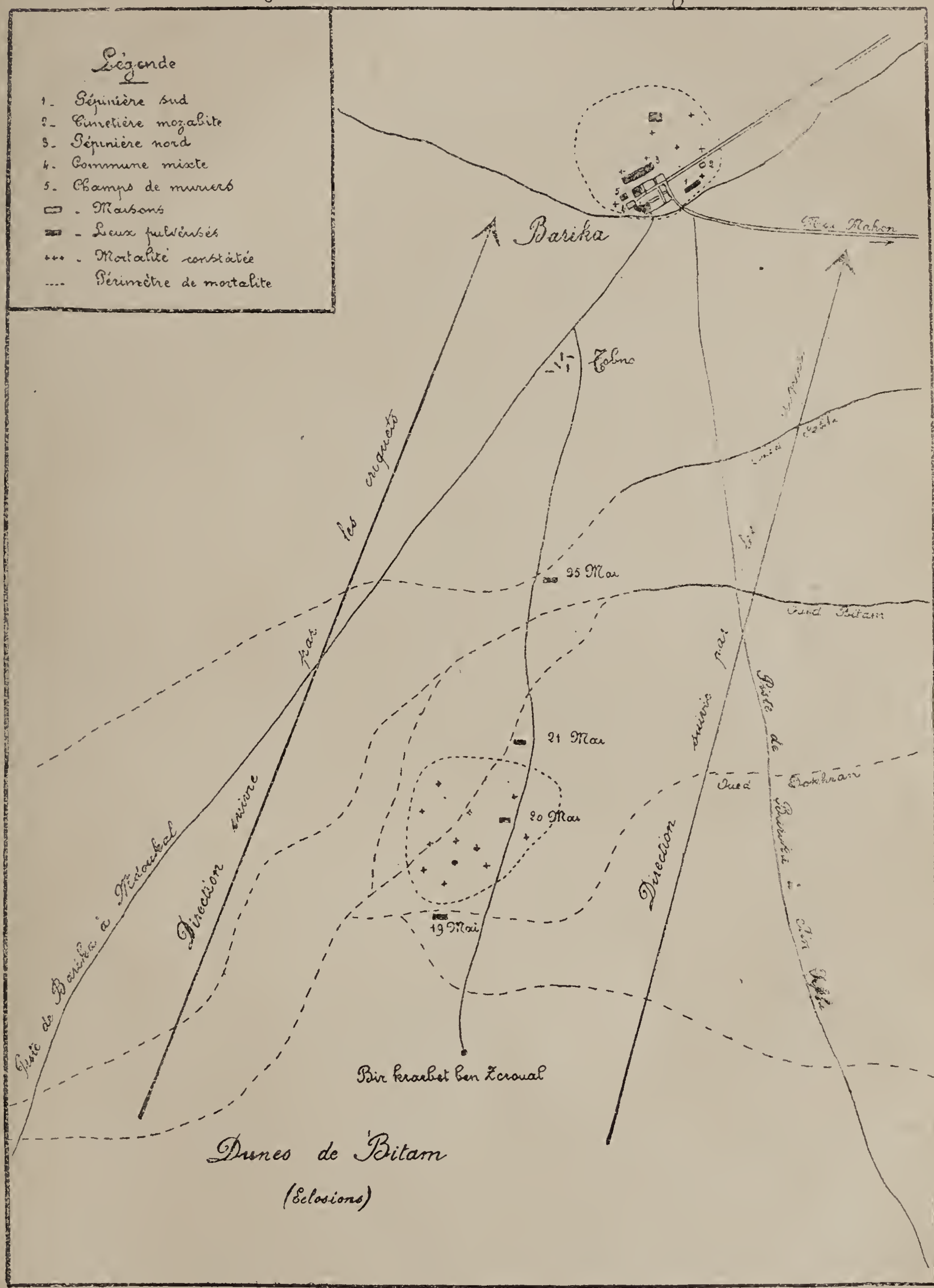
Les Sauterelles étaient arrivées jeunes dans le Mouydir et le Tidikelt, à ce premier stade de leur vie adulte où elles sont caractérisées par une couleur rouge carmin et un développement sexuel incomplet. Elles demeurèrent à ce stade pendant toutes leurs évolutions sahariennes jusqu'à la fin de l'hiver. A ce moment-là seulement, les premières chaleurs leur permirent de franchir les cols de l'Atlas vers le Nord, pendant que s'effectuait leur maturation sexuelle. Elles devinrent alors jaunes, prêtes désormais pour les accouplements et les pontes.

Ce sont donc les Sauterelles nées au Soudan qui envahirent simultanément, en mars 1915, le sud du Maroc, de l'Algérie et de la Tunisie, par grandes colonnes *parallèles* se dirigeant vers le Nord.

Après avoir été arrêtées pendant ces quatre longs mois par un hiver rigoureux, les Sauterelles pondirent en masse, dès les beaux jours d'avril, à la lisière sud des Hauts Plateaux, et ce fut cette heureuse particularité météorologique qui sauva les cultures du Nord d'un désastre que rien n'aurait pu éviter. Les premières pontes sont en effet, de beaucoup, toujours les plus importantes, et les colonnes de criquets qui en résultèrent évoluèrent dans des régions désertiques où les dégâts ne pouvaient pas être importants. Enfin lorsque ces mêmes criquets prirent leurs ailes, ils retournèrent, comme c'est la règle, vers les régions sahariennes pour y passer la plus grande partie de leur vie adulte. L'Algérie du Nord n'eut donc à redouter que les dernières séries de pontes, qui allaient en diminuant beaucoup d'importance à mesure qu'elles étaient effectuées plus tard. Ce ne fut que sur les Hauts Plateaux sétifiens et constantinois que les criquets purent faire quelques ravages, et même la plupart des récoltes étaient déjà moissonnées. Enfin, dans les régions riches du Tell que la plupart des Sauterelles n'avaient pu atteindre, épuisées par ces pontes successives, en juillet, les éclosions furent à peu près nulles ou peu importantes. En août toutes les vieilles Sauterelles étaient mortes, et toutes les jeunes, nées en Algérie, et qui n'avaient pas encore regagné

le Sahara, prenaient définitivement la direction du Sud où elles

Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les Schistocerca peregrina dans la région de Barika (Dt de Constantine) avril - juillet 1915.



disparaissaient sans qu'on pût les suivre. Dès le début de septembre, l'invasion pouvait être considérée comme terminée.

II

Exaltation de la virulence.

Les expériences furent commencées dès le début de décembre 1914, quand les Sauterelles atteignirent Touggourt. Il fallut partir du virus primitif qui provenait de *Schistocerca* de l'Amérique du Sud et qui était conservé depuis près de 3 ans *in vitro*. De nouveaux passages par *Schistocerca* algériens étaient donc nécessaires pour exalter à un degré suffisant la virulence du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. Obtenue au bout de 9 passages, cette virulence fut maintenue pendant toute la durée de l'invasion : dès que le virus ne tuait plus une Sauterelle qu'en une quinzaine d'heures par inoculation au laboratoire, il était soumis à une nouvelle série de passages jusqu'à ce que la mort fût obtenue en 6 ou 8 heures, de façon à être prêt aussitôt que la méthode serait applicable.

La technique était la suivante :

Inoculation d'une première série de 10 Sauterelles avec quelques gouttes d'une culture en bouillon de *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle, puis, dès que les 3 ou 4 premières étaient mortes avec la diarrhée caractéristique, inoculation d'une deuxième série avec quelques gouttes d'une dilution de cette diarrhée dans de l'eau physiologique. Il suffisait en général d'une dizaine de séries pour avoir un virus prêt à être employé.

Tant que les *Schistocerca* restèrent au premier stade de leur vie adulte, c'est-à-dire rouges, les symptômes observés après l'inoculation furent les mêmes : diminution de l'agilité et paralysie flasque progressive des pattes postérieures, avec diarrhée abondante, puis mort en quelques heures avec paralysie totale.

Dès que la maturation sexuelle se produisit, c'est-à-dire quand les Sauterelles devinrent jaunes, on put constater une différence dans les phénomènes nerveux : au lieu de se traîner péniblement, les pattes postérieures paralysées, les malades se dressaient nerveusement sur leurs pattes raidies et contracturées avec des phénomènes spasmodiques intenses et une abolition du sens musculaire qui faisaient penser aux mouvements produits chez l'homme par l'ataxie locomotrice ou par

l'ivresse. La mort survenait ensuite, les pattes postérieures étant en flexion forcée, avec une contracture telle qu'il était nécessaire de briser l'articulation pour obtenir l'extension complète.

Cette modification dans les symptômes ne semble pas attribuable au virus, car elle s'est produite seulement au moment de la maturation sexuelle, et presque uniquement chez les mâles. Elle est due vraisemblablement à l'irritabilité plus grande du système nerveux abdominal pendant la période de développement intensif des organes génitaux internes.

La virulence put être exaltée à un plus haut degré vis-à-vis des criquets, et on obtint en 6 passages un coccobacille tuant en 4 heures au laboratoire. Mais dans ce cas de mortalité très rapide, le virus semblait agir surtout par une extrême toxicité, et la mort survenait avant la fin de l'évolution normale de la maladie, avec une diarrhée séreuse, quelquefois minime.

L'inoculation de cette diarrhée peu infectante et toxique donnait alors des résultats très irréguliers, et il était souvent nécessaire de recourir à une autre souche microbienne pour continuer les passages. Pour éliminer cette cause d'erreur on évita par la suite de se servir des gouttes diarrhéiques de criquets morts en moins de 3 heures, prélevant le virus, dans chaque série, sur ceux qui mouraient en 4 ou 5 heures seulement.

III

Essais de contamination dans la nature.

Pendant toute la durée de l'hiver il n'avait pu être procédé à aucun essai d'application de la méthode biologique, parce que les Sauterelles rouges mangeaient peu et que leurs mœurs rendaient bien improbable l'extension de l'épizootie. Il en fut de même après la maturation sexuelle, car les Sauterelles jaunes commirent encore moins de dégâts au moment des accouplements et des pontes, que les rouges pendant leurs grands vols erratiques de l'hiver.

Il fallut attendre l'apparition des criquets nés de leurs premières pontes, et même le moment où les criquets se mirent à

manger, pour procéder à des essais de contamination dans la nature, par la pulvérisation de cultures de *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle.

Les expériences furent effectuées sur les diverses parties d'une tache considérable de criquets éclos dans le Remel de Bitam, plaine sablonneuse qui s'étend à une vingtaine de kilomètres au sud de Barika, à l'extrémité est du bassin du Hodna. La largeur considérable de cette bande, qui était de 30 kilomètres au début, la direction constante qu'elle suivit pendant toute son évolution et les péripéties de la lutte par les moyens mécaniques permirent de pratiquer les pulvérisations, chaque fois que cela fut nécessaire, sur des criquets n'ayant jamais été contaminés. Effectuées successivement sur des terrains très différents, ces expériences furent répétées à chaque stade sur une longueur de 20 kilomètres environ, jusqu'au moment où les dernières Sauterelles, ayant malgré tout échappé à une destruction intensive, purent effectuer leur métamorphose dans les jardins de Barika et s'envoler définitivement. D'autres essais furent alors tentés sur ces vols de départ ainsi que sur des vols de passage également de Sauterelles jeunes, venant de se métamorphoser et semblant retourner vers le Sud.

La technique, toujours la même pour chaque expérience, était la suivante : pulvérisation, sur les pâtures principales des criquets ou des Sauterelles, d'un bouillon de culture jeune (26 à 48 heures) tuant en 6 heures au plus tard par inoculation au laboratoire.

La quantité de bouillon ainsi pulvérisée fut de 370 litres répartis en treize essais différents pendant une période de 40 jours.

Des conditions différentes, déterminées par les mœurs caractérisant chaque stade, permettent de diviser ces expériences en trois groupes :

1° *Essais de contamination de criquets jeunes* (3e *et* 4e *stades*).

2° *Essais de contamination de criquets âgés de plus de* 20 *jours* (5e *et* 6e *stades*).

3° *Essais de contamination d'adultes après la métamorphose.*

1° *Essais de contamination de criquets jeunes âgés de* 10 *à* 15 *jours*

(3e *et* 4e *stades*).

Toutes les pulvérisations de ce groupe ont été effectuées dans une plaine désertique, à végétation naturelle très pauvre. La bande entière étant trop vaste pour une expérience, et trop homogène pour que l'on pût y étudier des bandes séparées, chaque essai a porté sur un secteur de 500 mètres environ de large, déterminé sur le vaste front de la bande de criquets soit par des points de repère artificiels, soit par une disposition heureuse du terrain. Chaque secteur ainsi constitué était suivi tous les jours, heure par heure, depuis le départ des criquets au lever du soleil, jusqu'à leur immobilisation à la tombée de la nuit. Durant toute la journée, de petits « tumuli » de terre sèche ou de pierres placés à chacune de ses extrémités et renouvelés chaque fois que l'avance des criquets le nécessitait, permettaient de repérer aussi exactement que possible les positions successives de ce secteur sur le front mobile de la bande. Chacun de ces secteurs était choisi autant que possible loin des chantiers de destruction mécanique.

A. — Le 19 *mai*, pulvérisation de 20 litres de bouillon dans le lit de l'oued Dokhrane (1), affluent de l'oued Bitam, sur une longueur de 500 mètres environ. Temps clair, vent faible et frais. Les criquets sont groupés par taches très serrées, sur les bords du ruisseau qui occupe le lit desséché de l'oued. Le bouillon est pulvérisé, au moment où le soleil disparaît derrière l'horizon, sur les petites herbes tendres qui tapissent les creux et les parois abrités, ainsi que sur les buissons à feuilles épaisses des bords escarpés.

Le 20 *mai*, à 6 heures, l'*herbe est presque entièrement dévorée*. Les buissons à feuilles coriaces sont indemnes. A 8 heures les criquets se mettent en marche vers le N.-E., engourdis par le froid. A 10 heures une bande énorme venant de W.-S.-W. vient se mélanger à eux, rendant très difficile le repérage. Pendant toute la journée le front se déplace vers le N.-E. de 1.500 mètres. A aucun endroit on ne trouve de signe d'épizootie.

Le 21 *mai*, le front avance de 600 mètres vers le N. Aucun signe d'épizootie.

Le 22 *mai*, le front continue à avancer sans présenter aucun symptôme de maladie. Par contre, en arrière de la colonne, à 300 mètres au nord du ravineau pulvérisé, on commence à trouver de nombreux morts sous les buissons. Des criquets malades se laissent attraper facilement à la main,

(1) Voir la carte, p. 227.

d'autres se traînent péniblement. Tous ont la diarrhée noire caractéristique de l'épizootie à coccobacilles, et l'on obtient très facilement une goutte fécale en pressant l'abdomen. Les criquets sains dévorent ces malades dès qu'ils ne sont plus en état de s'échapper. Sous certains buissons, on trouve de véritables amas de cadavres dévorés presque entièrement et réduits à de simples têtes. Le périmètre de cette zone de mortalité a environ 1 kilomètre de rayon, à partir du lieu de la pulvérisation et seulement dans les directions N., N.-W. et N.-E.

Le 23 *mai*, le front s'est encore avancé de 1 kilomètre environ et ne présente aucun signe d'épizootie : ni cadavres, ni malades. A l'arrière, la zone de mortalité s'étend à 1.500 mètres du lieu pulvérisé, mais, la bande principale étant passée, les criquets sont très clairsemés. Dans cette zone de nombreux malades sont incapables de traverser un ravineau à bords escarpés formé par une des branches de terminaison de l'oued Bitam, et de nombreux morts se remarquent tout le long de ses parois, ainsi que dans les trous et les crevasses.

Le 24 *mai*, la bande principale est bien séparée de la bande malade très clairsemée, restée aux alentours des lieux pulvérisés où la zone de mortalité s'étend peu à peu, mais très faiblement.

Le 25 *mai*, et les jours suivants, on trouve des morts à des endroits de plus en plus éloignés du ravin de l'oued Dokhrane, jusqu'à 4 et 5 kilomètres. Mais ce sont quelqnes cadavres isolés dans le flot des criquets qui passent sans encombre. Le foyer primitif s'éteignit peu à peu, les derniers cadavres se desséchant au soleil, trop isolés pour être dévorés.

Le 30 *mai*, il n'y a plus un criquet dans la zone de mortalité primitive, et dans la bande principale, parvenue à 13 kilométres du lieu de la pulvérisation, c'est à peine si de loin en loin on trouve encore un criquet mort ou malade sous un buisson, avec la goutte fécale caractéristique.

B. — Le 20 *mai*, pulvérisation de 20 litres de bouillon sur un champ de *Peganum harmala* L. (armel) et sur une ligne de buissons artificiels (1) de la même plante disposée le long du front des criquets, sur un terrain dénudé voisin, représentant une superficie totale de 10 à 15 hectares. Les criquets sont très serrés et se blottissent dans les buissons d'armel. Temps froid et humide. On ne les voit pas manger. Le bouillon est pulvérisé à la nuit tombante sur les touffes et les buissons artificiels.

Le 21 *mai*, à 7 heures, *les criquets n'ont pas mangé les appâts* et les touffes d'armel sont intactes. Les criquets sont toujours dans les buissons et ne se mettent en marche qu'à 8 heures, sans avoir mangé. Durant toute la journée le front progresse de 1.100 mètres sans présenter aucun signe d'épizootie.

Le 22 *mai*, et les jours suivants, les criquets marchent toujours sans présenter aucun signe pathologique, et à part quelques rares cadavres à 500 mètres au nord du champ d'armel, on n'a pu à aucun moment constater une contamination réelle à la suite de cette pulvérisation.

C. — Le 21 *mai*, pulvérisation de 20 litres de bouillon, sur un champ de blé de 7 à 8 hectares. Les criquets sont presque complètement arrêtés à quelques mètres du champ, dans un endroit absolument dénudé et dépourvu de

(1) Ces buissons artificiels consistaient simplement en plantes déterrées et disposées de distance en distance sur les endroits dénudés.

pâtures. Le blé est en épis, très grand mais encore vert. Le bouillon est pulvérisé à la tombée de la nuit en gouttes très fines, de haut, sur toute la surface du champ. Violent sirocco aussitôt après la pulvérisation, puis orage et pluie pendant la nuit.

Le 22 *mai*, à 6 heures du matin, temps couvert et froid. *Les criquets ne sont pas entrés dans le champ de blé*, à 8 heures ils se mettent en marche et traversent le champ sans commettre de dégâts apparents. Le soir ils parviennent à 800 mètres du champ sans présenter de symptômes pathologiques.

Le 23 et les *jours suivants* les criquets progressent toujours sans encombre et à aucun endroit on ne peut trouver de cadavres ni de mourants.

D. — Le 25 *mai*, pulvérisation de 20 litres de bouillon, quelques minutes avant le coucher du soleil, sur un champ de blé d'une quinzaine d'hectares, au bord de l'oued Sehli, à 2 kilomètres au sud des ruines de Tobna. Temps couvert, chaud et humide. Les criquets sont tous montés sur les épis très hauts mais encore verts, qu'ils font courber sous leur poids.

Le 26 *mai, les criquets n'ont pas touché au blé* et le champ reste intact, pendant que les criquets continuent à le traverser, se massant par colonnes dans les sillons importants. A peine quelques feuilles basses sont grignotées. Pas de symptômes d'épizootie.

Le 27 *mai*, et les jours suivants, une zone très faible de mortalité s'étend jusqu'à 1.500 mètres au nord de l'oued Sehli, mais comprenant à peine de rares cadavres sous quelques buissons. Toute la bande progresse sans encombre et, quand le front des criquets arrive à l'oued Barika, on ne peut trouver ni un malade, ni un cadavre sur une largeur de 8 kilomètres.

2° *Essais de contamination de criquets âgés de plus de 20 jours*

(5e *et* 6e *stades*).

Les pulvérisations de cette série furent commencées lorsque les criquets atteignirent les jardins et pépinières de Barika. Elles furent toutes effectuées dans des pépinières comprenant surtout des frênes, des abricotiers et des oliviers, et au milieu de chantiers très actifs de destruction mécanique.

A. — Le 1er *juin*, pulvérisation de 20 litres de bouillon dans la pépinière sud couvrant 5 hectares. Il est impossible d'évaluer la superficie exacte recouverte par les criquets qui sont amassés en véritables grappes sur les arbres. Les criquets sont presque tous au 5e stade et mangent les feuilles et les fruits avec voracité. Le bouillon est pulvérisé de loin, en gouttes fines, sur le feuillage des arbres, par un sirocco très violent, à 17 h. 1/2, dès que les rayons du soleil deviennent rougeâtres et que les ombres s'allongent.

Le 2 *juin*, à 6 heures, les criquets sortent de la pépinière qui est à moitié dévastée, laissant certains arbres absolument dépourvus de feuilles et même d'écorce, et se dirigent vers le nord-est. A 8 heures, ils rencontrent une séguia (1) bétonnée de 1 mètre de largeur, à fort courant et à parois lisses,

(1) Canal d'irrigation.

qui les arrête quelques heures et en détruit une forte quantité. Néanmoins le gros de la colonne passe et atteint le soir la route de Barika à Ngaous au niveau du cimetière mozabite (1).

Le 3 *juin*, à 7 heures, on trouve de nombreux morts à partir de la séguia bétonnée : cadavres présentant la diarrhée noire caractéristique contenant le *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle, jusqu'au cimetière mozabite où les criquets ont passé la nuit.

C'est autour du cimetière que la mortalité est la plus forte. 20 ou 30 criquets gisent sous chaque touffe, à moitié dévorés, et de nombreux malades y restent encore au lieu de suivre la colonne qui continue sa marche vers le nord.

Le 4 *juin*, la mortalité augmente autour du cimetière mozabite, on compte jusqu'à 40 cadavres sous chaque touffe, et elle s'étend jusqu'au point où le front des criquets a passé la nuit. Dans toute cette zone on trouve de nombreux malades, soit sous les buissons où ils achèvent de mourir, soit en terrain découvert, entre les pierres, où ils sont dévorés par leurs compagnons de route dès qu'ils perdent leur agilité normale. Cette mortalité *de jour* est très difficile à suivre, car les débris des cadavres isolés sont immédiatement entraînés par le vent, tandis que la mortalité *nocturne* est toujours beaucoup plus nette : en effet, les criquets se tassent les uns contre les autres sous les buissons pour y passer la nuit, et leurs cadavres le matin sont encore protégés contre le vent par les branches basses et les racines.

Le 5 *juin*, la mortalité très dense, avec des cadavres sous chaque buisson, s'étend sur 100 hectares, la bande est plus clairsemée et forme plusieurs portions dont quelques-unes, très infectées, restent stationnaires. La pointe extrême, constituée par une bande de deux ou trois hectares, contenant de nombreux porteurs de germes, est rencontrée par une bande un peu plus importante qu'elle, venant de l'ouest. Les criquets des deux bandes se mélangent, et après un moment de désarroi prennent tous la direction de l'Est qui était celle de la bande la plus forte.

Le 6 *juin*, les portions immobiles de la bande pulvérisée dans la pépinière sont autant de foyers de mortalité où les symptômes de l'épizootie sont très nets : cadavres et malades d'autant plus nombreux que les criquets sont plus serrés, proportion moyenne de 20 à 30 criquets par touffe. Autour du cimetière mozabite, où se trouvait le foyer primitif, il n'y a plus de criquets vivants, et les derniers cadavres noircissent au soleil.

Le 7 *juin*, une deuxième bande venant de l'est atteint le cimetière mozabite vers dix heures du matin et passe sans dévorer les cadavres noircis. La première bande qui a rencontré la tête de colonne le 5 juin, où se trouvaient des malades et des mourants, immédiatement dévorés par les nouveaux venus, présente maintenant les signes ordinaires de l'épizootie à *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle.

Le 8 *juin*, une troisième bande, très importante, venant de l'est, balaie les derniers vestiges des taches immobiles.

La première bande, qui a fait dévier la tête de colonne de la bande pulvérisée dans la pépinière, atteint les jardins de Barika et se mélange aux autres sans qu'on puisse la suivre.

Le 9 *juin*, et les jours suivants, on ne distingue plus les taches immobiles restant de la bande de la pépinière, mais on trouve quelques rares malades ou cadavres dans la bande qui s'est mélangée à elles le 8. Par contre on ne

(1) Voir la carte, p. 227.

trouve aucun symptôme d'épizootie dans la bande qui est passée sur les cadavres noircis.

Le 12 *juin*, les bandes qui ont entraîné les restes de la bande de la pépinière ont atteint les jardins de Barika et il est devenu impossible de les suivre au milieu de celles qui s'y trouvent et qui sont infectées par d'autres expériences.

B. — Le 2 *juin*, pulvérisation de 20 litres de bouillon, dans la pépinière sud, des masses de criquets qui sont venus remplacer les masses pulvérisées le 1er et parties le 2 au matin. Les criquets dévorent les arbres épargnés, et le bouillon est pulvérisé à 5 heures du soir par temps frais et couvert.

Le 3 *juin*, les criquets sortent de la pépinière par l'ouest, traversent la route de Mac-Mahon et se jettent aussitôt dans les jardins et maisons de la partie est du village de Barika. Dès ce moment il devient impossible de les suivre.

C. — Le 3 *juin*, pulvérisation de 20 litres effectuée dans les mêmes conditions que la précédente, et dont il fut impossible de contrôler les résultats exacts : les criquets se répandirent dans les jardins particuliers et les maisons, dès le lendemain de la pulvérisation, rendant toute recherche impraticable.

Les résultats de ces deux pulvérisations se confondirent sans doute avec une des pulvérisations effectuées dans la pépinière nord, car les criquets se mélangèrent intimement au bout de peu de jours par leurs évolutions continuelles à l'intérieur du village.

D. — Le 11 *juin*, pulvérisation de 20 litres de bouillon, dans la moitié ouest de la pépinière nord, couvrant environ 5 hectares, les arbres étant surchargés de criquets. Le bouillon est pulvérisé sur les jeunes abricotiers et les jeunes frênes vers 5 heures du soir, par temps chaud et clair, au moment où ils sont dévastés par les criquets appartenant tous au 6e stade.

Le 12 *juin*, les criquets se dirigent vers l'ouest et tendent à sortir de la pépinière, mais, rencontrant une bande importante venant en sens inverse, et gênés dans leur marche par une série d'obstacles, ils se séparent en trois bandes, une qui pénètre dans le village en allant vers le sud, une autre qui gagne les jardins bordant au nord la Commune mixte, et une dernière qui, revenant sur ses pas retourne dans la pépinière avec la bande venant de l'ouest.

Le 13 *juin*, on commence à trouver des morts et des malades dans toute l'étendue de la pépinière nord. Les cadavres sont surtout au pied des arbres ou sous les grosses branches. Les criquets sains dévorent les malades avec avidité, souvent bien avant la paralysie totale.

Le 14 *juin*, la mortalité augmente et s'étend dans tous les jardins voisins. Il devient très difficile de déterminer exactement l'aire de dispersion du virus propre à chaque expérience, car les criquets tournoient dans le village et pénètrent dans les maisons particulières. Aussi, quoique la présence de morts et de malades soit facile à constater maintenant dans tout le village, les résultats de la pulvérisation du 11 juin sont surtout étudiés dans la pépinière nord, et dans les jardins au nord de la commune mixte, où les criquets contaminés proviennent sûrement de cette expérience.

Le 15 *juin*, la mortalité devient réellement importante. Sous un seul arbre.

à 5 heures du matin, on trouve 220 criquets morts ou mourants, présentant tous la diarrhée caractéristique où l'on retrouve le *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. Il est à remarquer que cette mortalité augmente quoique de très nombreux porteurs de germe, provenant de la bande de la pépinière, soient tous les jours détruits par les chantiers de destruction mécanique.

Le 16 *juin*, à 9 heures, on détermine autour du tronc d'un mûrier, choisi de dimension moyenne parmi les arbres semblables, dans un jardin encore intact que va envahir une bande infectée venant de la pépinière, nord, un cercle de 2 mètres de rayon, et dont la circonférence est marquée par de grosses pierres.

A 11 heures, les criquets atteignent le mûrier et commencent à dévorer le feuillage.

A 18 heures, on trouve déjà des cadavres et des mourants autour du tronc.

Le 17 *juin*, le jardin de mûriers est envahi et on trouve des cadavres au pied de tous les arbres.

On trouve maintenant des Sauterelles roses, venant de se métamorphoser. Quelques-unes, trop malades, n'ont pas la force de terminer cette dernière mue, et tombent à terre incomplètement transformées, devenant rapidement la proie des criquets voisins. D'autres effectuent complètement leur métamorphose, mais sont incapables de voler, leurs ailes étant mal constituées ou atrophiées. Les Sauterelles roses malades présentent les mêmes symptômes que les criquets, et la diminution de l'agilité qui correspond au début de la maladie les empêche nettement de voler comme les autres. De même que les criquets de tous âges, les Sauterelles roses saines dévorent les malades avec avidité.

Le 18 *juin*, dans beaucoup d'endroits, surtout le long des buissons épineux recherchés par les criquets pour la métamorphose, on trouve de nombreux cadavres de Sauterelles ailées, dont le nombre augmente à mesure que les métamorphoses sont plus nombreuses. On trouve aussi beaucoup de « monstres », c'est-à-dire des Sauterelles mal transformées incapables de voler normalement et souvent même de continuer à vivre. Elles sont d'ailleurs rapidement la proie des voisines saines. La mortalité continue sous le mûrier observé, et on y trouve aussi quelques Sauterelles roses. De très jeunes criquets appartenant au 4e stade sont venus se mélanger aux criquets malades et se sont contaminés : on trouve de très petits cadavres au milieu des autres.

Le 19 *juin*, de nombreux criquets paraissant moins agiles que les autres et ne présentant pas la goutte fécale caractéristique sont mis en observation pendant quelques heures au laboratoire : les symptômes ordinaires apparaissent alors, mais la goutte fécale n'apparaît souvent qu'avec la paralysie presque complète. Le fait peut être observé, surtout sur les criquets venant d'effectuer une mue. Les cadavres qui tombent des arbres tombent souvent à moitié, ou même complètement dévorés : ce n'est même quelquefois qu'une tête, respectée à cause des mandibules très dures, que les criquets cannibales abandonnent du haut des branches. Car ce sont surtout les malades qui sont dévorés. Il faut qu'un cadavre soit très frais ou que le criquet soit encore mourant pour que les voisins le dévorent et un cadavre en voie de putréfaction est toujours abandonné aux fourmis et aux coléoptères.

Le 22 *juin*, le mûrier observé est complètement dévasté. A 10 heures, on ramasse avec une pelle tout ce qui se trouve sous l'espace circonscrit par le cercle de pierres : cadavres, débris de toute sorte, terreau. Les cadavres sont isolés des débris et la terre passée au crible. On peut ainsi constater

que 2.912 criquets sont morts pendant ces six jours, du 16 au 22, dans la partie de l'arbre qui surplombe les 12 mètres carrés observés. Ces cadavres se répartissent ainsi :

Entiers	105
A moitié dévorés	1.480
Têtes	1.327

Les 1.327 têtes, ainsi que la plupart des cadavres classés sous la dénomination « à moitié dévorés », ne possédant guère que le thorax, étaient dissimulés dans la terre et décelaient une mortalité absolument invisible au premier aspect.

Le mûrier étudié pouvant être pris comme élément moyen de tout un hectare semblable, on peut en déduire qu'il est mort sur cet hectare 2.500.000 criquets en six jours. Pour représenter en volume cette mortalité, et la rendre comparable à celle provoquée par les moyens mécaniques, il suffit de se rappeler que les criquets morts sous ce mûrier étaient en moyenne des 5e et 6e stades, et que, pour remplir le volume d'un litre, il faut environ 600 criquets de ces deux stades. Le résultat atteint par l'épizootie à *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle dans cet hectare pendant ces six jours, a donc été sensiblement le même que si l'on avait fait trois tranchées de 6 mètres sur $0^{m},50$, garnies chaque fois d'une couche de $0^{m},50$ de criquets du 5e et du 6e stade.

Le 23 *juin*, les Sauterelles ayant échappé à la destruction par les moyens de toute sorte commencent à prendre leur vol de départ; de nombreuses Sauterelles malades restent incapables de voler, marchant avec les criquets non encore métamorphosés, et se laissant détruire très facilement par les moyens mécaniques.

Le 24 *juin*, et les jours suivants, les dernières Sauterelles s'envolent, et il ne reste plus que quelques monstres et quelques malades qui achèvent de mourir isolément.

Dans une région éloignée de 40 kilomètres, les criquets non soumis à des aspersions de bouillon contaminant, poursuivirent leur évolution sans présenter aucune mortalité ni aucun malade, et au moment de la métamorphose, on ne trouva nulle part de monstres, atrophiés ou mal formés.

E. — Le 14 *juin*, pulvérisation de 20 litres de bouillon dans la moitié est de la pépinière nord. Les criquets dévorent les dernières feuilles des arbres. Le bouillon est pulvérisé à 17 h. 30, dès que les rayons du soleil sont affaiblis.

Le 15 *juin*, les criquets pénètrent dans le village et se mélangent en tournoyant avec toutes les autres bandes. Il est impossible de séparer les résultats de cette pulvérisation de ceux des 2 et 3 juin dans la pépinière sud. Ce qui est certain, c'est que ces trois pulvérisations ont donné des résultats semblables à ceux qui purent être si bien étudiés dans la bande du 11 juin. Car, depuis le 5 juin jusqu'au 1er juillet, on put trouver des signes nets d'épizootie dans toutes les parties du village et les jardins voisins envahis par les criquets. Moins visibles dans les maisons et dans les cours, les cadavres étaient d'autant plus nombreux sous les arbres, que ceux-ci étaient importants et couverts de feuillage. Les « monstres » et les Sauterelles incapables de voler furent observés dans toute cette zone de mortalité, mais seulement dans les endroits relativement éloignés des habitations où les métamorphoses avaient pu s'opérer.

F. — Le 18 *juin*, pulvérisation de 20 litres de bouillon dans le jardin de la Commune mixte. Les criquets qui ont envahi ce jardin proviennent surtout des bandes infectées de la pépinière nord, et on trouve parmi eux de nombreux cadavres. Cette expérience est faite pour voir si on peut augmenter l'importance de l'épizootie en faisant une deuxième pulvérisation sur les mêmes.

Le 20 *juin*, et les jours suivants, à aucun moment on ne put constater une augmentation de la mortalité, qui demeura toujours comparable à celle observée au même moment dans le champ de mûriers, c'est-à-dire dans la partie de la bande qui n'avait été pulvérisée qu'une fois.

3° *Essais de contamination de Sauterelles ailées.*

Dans cette troisième série d'expériences, on essaya de contaminer des bandes de Sauterelles roses, pour les empêcher de prendre leur vol définitif, ou tout au moins pour les infecter et en faire des porteurs de germe, destinés à porter l'infection parmi les autres bandes. 170 litres de bouillon furent répandus entre les 22, 23 et 27 juin, non pulvérisés comme dans les autres expériences, mais projetés avec force pour atteindre la cime des arbres où se trouvaient surtout les Sauterelles. Ces Sauterelles provenaient soit de la métamorphose des criquets développés dans la région, soit de bandes ailées abattues sur Barika, au cours de leur vol migrateur.

Les vols de départ eurent lieu, malgré une infection évidente, marquée par une notable mortalité, et la direction sud que prirent ces vols au moment du départ fit abandonner tout espoir d'obtenir des renseignements sur la marche ultérieure de l'épizootie.

Il fut impossible de séparer exactement la mortalité due à ces pulvérisations de la mortalité causée par les expériences précédentes. Mais la sensibilité de la Sauterelle ailée jeune avait été démontrée nettement par l'expérience du 11 juin, où fréquemment la maladie, commencée chez le criquet du 6e stade, ne s'était terminée par la mort qu'après la métamorphose, et où des Sauterelles roses saines s'étaient contaminées en dévorant des cadavres infectés.

IV

Conclusions.

1° *On peut, par la pulvérisation sur les pâtures d'une culture virulente* (1) *de* Coccobacillus acridiorum *d'Hérelle, provoquer une épizootie dans les bandes de criquets de* Schistocerca peregrina *Ol.*

Cette épizootie se manifeste au bout de deux jours environ, par l'apparition de malades en nombre variable présentant les symptômes suivants :

a) Diminution de l'agilité, causée par une paralysie progressive, commençant par les pattes sauteuses ;

b) Diarrhée abondante, noire, contenant le *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle.

A la fin du deuxième jour, on peut déjà trouver des cadavres de ces criquets, avec la goutte fécale caractéristique. Il est impossible de déterminer exactement le pourcentage des cas se terminant par la mort : *au laboratoire*, tous les criquets recueillis au moment de l'apparition de la goutte, ou même des premiers symptômes de paralysie, meurent en quelques heures. *Dans la nature*, on ne peut qu'établir un pourcentage de mortalité d'après le nombre des cadavres visibles. Les bandes sont seulement décimées. La destruction ne peut être ni totale ni rapide, même dans les meilleures conditions.

2° Les Schistocerca peregrina *Ol. sont sensibles au* Coccobacillus acridiorum *d'Hérelle à tous les stades de leur évolution.* L'inoculation donne sensiblement les mêmes symptômes chez le criquet que chez la Sauterelle ailée. La mue n'arrête pas le développement de la maladie, l'accomplissement de la mue est rendue difficile par l'épuisement du sujet infecté. Ces conséquences de l'infection sur la mue ne sont pas nettement visibles pour les mues simples qui séparent les différents stades

(1) Le meilleur virus, obtenu par passages, est celui prélevé sur des criquets morts en 4-5 heures. Lorsque le virus tue en 2 ou 3 heures, la mort se produit surtout par le fait de l'hypertoxicité du microbe, et la diarrhée, peu abondante et séreuse dans ces cas, ne contient pas ou presque pas de Coccobacilles.

du criquet, mais au moment de la métamorphose, lorsque le criquet devient Sauterelle, la maladie peut exercer une influence notable sur cette dernière transformation. Plusieurs cas peuvent se présenter :

a) Le criquet meurt avant de terminer sa mue ;

b) La métamorphose étant effectuée trop lentement, le criquet est dévoré par ses voisins ;

c) Le criquet n'ayant pas la force de se gonfier pour atteindre son nouveau volume, il reste après sa métamorphose à l'état de Sauterelle atrophiée, toute ridée, avec des ailes plus ou moins déplissées, ou même quelquefois recroquevillées et incapables de servir au vol ;

d) Enfin on a pu remarquer dans les bandes infectées, en dehors de ces véritables « monstres » porteurs d'une infirmité visible, un certain nombre de Sauterelles d'apparence saine, mais atteintes d'apténie et qui n'ont pas pu s'envoler avec les autres, le jour du départ de toute la bande.

3° *Conditions nécessaires pour amorcer la contamination d'une bande de criquets.*

a) Pour qu'une bande se contamine il est indispensable que les pâtures soient dévorées *aussitôt* après leur souillure par le bouillon de culture.

b) On ne peut tenter d'appliquer la méthode que lorsque les criquets mangent, c'est-à-dire lorsqu'ils ont au moins 10 jours.

c) Le moment où la pulvérisation donne les meilleurs résultats immédiats est celui où les criquets mangent le plus, c'est-à-dire le 6e stade.

d) Les meilleures pâtures sont les feuillages les plus tendres ou les plantes préférées des criquets dans chaque région, car elles sont dévorées entièrement.

e) Il faut asperger ces pâtures quand les criquets y sont groupés en masses compactes, pour en contaminer d'emblée le plus grand nombre.

4° *Une fois qu'une bande est contaminée, la propagation de l'infection se fait de criquet à criquet par le cannibalisme.* Tout criquet malade est immédiatement dévoré par le suivant, dès qu'il ne peut plus s'échapper. Mais les cadavres ne sont dévorés que s'ils sont très frais. Le cadavre d'un criquet mort éloigné

des autres est destiné à sécher au soleil et n'infectera aucun criquet.

Les meilleures conditions se trouveront donc réalisées dans une bande compacte.

5° *Dans les conditions ordinaires, en l'absence de toute immunisation héréditaire ou accidentelle, l'épizootie dure tant que les criquets sont assez rapprochés les uns des autres pour que tout malade soit immédiatement dévoré par ses voisins.* Les causes de diminution de l'intensité de cette épizootie sont donc toutes celles qui diminuent la densité des bandes de criquets :

a) La raréfaction progressive des criquets sous l'influence d'une destruction quelconque ;

b) L'échelonnement successif des retardataires malades, quand ils sont trop peu nombreux par rapport aux criquets sains de la tête de colonne.

Les causes favorisantes sont au contraire celles qui augmentent plus ou moins cette densité :

a) Dévastation lente de pâtures importantes ;

b) Obstacles naturels qui ralentissent la marche ;

c) Tournoiement sur place des bandes.

En général quand les conditions ne sont pas trop défavorables et que la quantité de bouillon pulvérisée d'emblée a été proportionnelle à la surface couverte par les criquets, dans une proportion assez variable d'ailleurs, mais en moyenne de 1 à 2 litres par hectare, l'épizootie peut durer jusqu'au vol de départ des jeunes Sauterelles après la métamorphose. Nous ne savons pas ce qu'elle devient pendant la migration.

6° *Les criquets continuent à dévaster les cultures même quand l'épizootie est fortement installée dans leurs bandes.* La méthode biologique n'est pas un moyen de protection immédiate et il ne faut pas espérer arrêter par une aspersion des criquets sur le point d'envahir un champ.

7° L'œuvre de destruction de l'épizootie à *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle est *lente* ; mais, lorsque les conditions ordinaires sont réalisées, elle est progressive et régulière. Dans tous les cas, ses résultats sont difficiles à voir :

a) Ils sont répartis sur une grande surface, et sur des journées successives ;

b) La mortalité diurne nous échappe presque complètement (débris épars emportés par le vent);

c) La mortalité nocturne, plus facile à constater, est surtout décelée par des éléments qu'un examen attentif seul peut mettre en lumière (têtes et débris dans la terre, sous les buissons).

8° La destruction opérée par cette méthode, dans de bonnes conditions ordinaires, est suffisamment importante pour être utilisée dans la pratique.

En effet, si cette destruction est lente, si la méthode ne peut pas protéger les cultures voisines, elle peut être un élément appréciable de destruction générale des criquets, en prévision des invasions consécutives.

En terminant cette note, nous sommes heureux de témoigner toute notre reconnaissance à M. l'administrateur Zannettacci-Stéphanopoli, de Barika, dont la collaboration dévouée et de tous les instants nous a souvent facilité notre travail, et nous remercions vivement MM. Zevaco et Denola, administrateurs adjoints, pour leur bonne amitié.

DE DIFFÉRENTES ESPÈCES DU PARASITE DE LA MALARIA

par le Dr E. J. MARZINOWSKY.

(Avec la planche IV; les figures 15-25, planche V et les figures 1-5, planche VI.)

La possibilité de cultiver le parasite de la malaria par la méthode de Bass a soulevé de nouveaux problèmes touchant la parasitologie du paludisme.

Grâce aux perfectionnements qu'on ne tardera sans doute pas à apporter à la technique de culture de ce protozoaire, on peut espérer, dans un avenir rapproché, arriver à expliquer la cause des récidives printanières et différencier l'une de l'autre les diverses espèces du parasite.

D'après quelques auteurs, il existerait plus de trois espèces du parasite de la malaria; de récents travaux ont paru sur cette question.

Ainsi Stephens décrit sous le nom de *Plasmodium tenue* une nouvelle espèce qu'il a trouvée aux Indes, chez un enfant indigène. Ce parasite se distingue du *Plasmodium præcox* par une plus grande mobilité, par un protoplasma relativement peu abondant, rayonnant souvent dans toutes les directions des prolongements longs et ténus, et par une grande quantité de chromatine qui se présente sous forme d'amas ou de bâtonnets. Cet auteur a rencontré très rarement des formes en chaton, très caractéristiques pour le *Plasmodium præcox*.

Ahmed Emin a décrit, sous le nom de *Plasmodium vivax*, var. *minuta*, une variété nouvelle du parasite de la fièvre tierce. Celle-ci est caractérisée par ses dimensions très réduites, qui ne dépassent jamais celles de la moitié d'un globule rouge. En se divisant, elle forme de quatre à dix mérozoïtes. Les globules rouges infectés n'augmentent pas de volume et se colorent normalement; quelques-uns d'entre eux renferment des « grains de Schüffner ».

Bien que Stephens n'ait pas décrit le cycle évolutif complet du parasite qu'il a découvert, nous sommes sûr que ce parasite

a été rencontré chez nous en Russie, comme il sera dit plus loin.

Quant au travail d'Ahmed Emin, il est impossible de s'en faire une idée complète, car son mémoire ne contient ni microphotographie, ni dessin en couleurs permettant de se rendre exactement compte de ce qu'a observé l'auteur.

Il peut se faire qu'Ahmed Emin ait rencontré un malade dont le sang présentait des formes quinino-résistantes du parasite de la malaria : ces dernières sont, en général, de dimensions moindres, montrent un protoplasma compact, prenant fortement les matières colorantes et renfermant une quantité relativement petite de grains pigmentaires.

M'occupant depuis longtemps de la parasitologie du paludisme, je suis arrivé à cette conclusion qu'il existe plusieurs espèces et variétés du protozoaire qui peuvent se rencontrer simultanément chez le même malade.

La lutte pour l'existence, qui a lieu continuellement dans l'organisme entre les différentes espèces du parasite, réduit certaines d'entre elles à des unités de telle sorte que l'examen du sang à un moment donné ne laisse guère voir que l'espèce prédominante.

C'est surtout dans l'étude du parasite de la fièvre tropicale qu'on rencontre ces différentes variétés; d'autre part, leur étude, dans ce cas, est rendue difficile par ce fait que le sang périphérique du malade renferme presque exclusivement des formes annulaires et des gamétocytes.

A côté de formes semi-lunaires typiques, nous avons exceptionnellement trouvé chez quelques malades d'autres formes semi-lunaires qui se distinguent nettement des premières par leurs dimensions exiguës, leur plus grande richesse en chromatine et leur protoplasma à contour peu précis. Le parasite était plus fin et plus long que d'ordinaire.

Cependant il est difficile de dire s'il représentait une variété spéciale, vu l'absence de formes de transition du cycle évolutif.

Maintenant, nous allons décrire un cas de malaria tropicale qui présente, selon nous, un intérêt particulier.

Le Dr Kikimorine m'a envoyé, en 1910, des frottis du sang d'une fillette de quatre ans, habitant le village de Baklanovka, près de Goudaout (littoral de la mer Noire).

Tombée malade au commencement de l'été de 1910, elle présentait des accès réguliers de fièvre tierce (*febris tertiana*).

Le 9 septembre, le type de la fièvre a changé ; les accès sont devenus quotidiens et la température s'est maintenue élevée (*febris quotidiana continua*).

La malade a été prise de vomissements accompagnés de maux de tête et de constipation. La rate est insensible à la palpation ; troubles de la nutrition, peau et muqueuses anémiques. La malade est traitée par la quinine.

Le 12 septembre, au moment de la crise fébrile (40°), on prélève du sang dont l'examen, malgré le traitement par la quinine, montre un grand nombre de parasites dont il est tout d'abord difficile de déterminer l'espèce.

Les formes annulaires (microphotographies 1, 2 et 3, pl. IV) rappellent celles du *Plasmodium præcox;* mais, à côté d'elles, on trouve également des parasites aux différents stades de la schizogonie.

Une étude attentive de ces éléments nous a permis de conclure qu'ils représentent une nouvelle espèce du parasite de la fièvre tropicale qui se distingue par les caractères suivants :

Les formes annulaires du parasite sont plus petites que celles du *Plasmodium præcox*; la chromatine est plus abondante et le noyau du parasite fait à moitié saillie sur le cercle de l'anneau. Le protoplasma forme un anneau plus épais qui ne se contracte presque pas vers le noyau. Les globules rouges sont rapidement détruits et montrent souvent des granulations de Schüffner et de Maurer.

Les formes schizogoniques de ces parasites présentent des caractères spéciaux. Les mérozoïtes pénètrent dans l'intérieur des globules rouges, s'y développent rapidement et détruisent l'hématie, dans laquelle la mélanine se dépose, non pas sous forme de grains isolés de pigment, comme cela a lieu ordinairement, mais en formant une tache noire homogène qu'on trouve à la périphérie du parasite (microphotographies 4 et 5, pl. IV). Le noyau de ce dernier est flou et se colore faiblement. Plus tard, il se divise en 2, 4, 8 et 12 (microphotographies 6 et 7, pl. IV) et même, exceptionnellement, en 16, mais plus tard encore survient la réduction de la chromatine, et le parasite forme définitivement 8, au maximum 10 mérozoïtes (microphotographie 8, pl. IV). Ces derniers sont caractérisés par leur forme triangulaire et leur noyau allongé qui conserve longtemps la trace de la fusion des deux masses chromatiques; le noyau forme, pour ainsi dire, la base d'un triangle et occupe les deux tiers environ du parasite (voir fig. 1, pl. VI).

Nous n'avons jamais observé plus de 10 mérozoïtes. Le cycle évolutif complet se déroule en quarante-huit heures; il y a concordance, dans notre cas, avec la marche clinique de la fièvre.

Nous n'avons malheureusement pu déterminer les formes sexuées du parasite; cependant, nous avons observé dans le sang des éléments particuliers (voir microphotographie 9, pl. IV) dont la signification nous échappe.

Les caractères des mérozoïtes et des formes annulaires du parasite, ainsi que la schizogonie particulière qu'il présente dans le sang périphérique, nous permettent de le considérer comme une espèce nouvelle, pour laquelle nous proposons la dénomination de *Plasmodium caucasicum*.

Nous donnons ici, à titre de comparaison, des microphotographies des mérozoïtes et des formes annulaires du *Plasmodium præcox* (microphotographies 10 et 11, pl. IV) ainsi que celles des stades de morula de ce parasite trouvés dans le frottis de rate (microphotographie 12, pl. IV). La dernière microphotographie montre que le *Plasmodium præcox* se divise en 18-24 mérozoïtes tout à fait sphériques, à noyau arrondi, entouré par une zone mince de protoplasma (voir aussi fig. 2, pl. VI).

On peut trouver les mêmes aspects dans les cultures du parasite de la fièvre tropicale, comme cela a été observé par certains auteurs.

Il faut cependant remarquer que nous trouvons en général dans la description du parasite de la fièvre tropicale l'indication qu'il se subdivise en 10-24 mérozoïtes.

Cette contradiction n'est qu'apparente et s'explique par le fait que l'homme peut être infecté en même temps par le *Plasmodium præcox* et par le parasite que nous décrivons.

Nous avons souvent observé des infections mixtes de ce genre que nous n'avons pu bien démêler qu'après avoir étudié un cas typique causé par notre parasite seul.

Par le nombre de ses mérozoïtes, *Plasmodium caucasicum* se rapproche le plus du *Plasmodium malariæ*, dont il diffère par ses dimensions et son aspect (comparer la microphotographie 8 avec les n°s 13 et 14, pl. IV, et la fig. 3, pl. VI); le type clinique de la fièvre qu'il occasionne est également différent.

Notre parasite se distingue aussi très nettement de celui de

la fièvre tierce (*Plasmodium vivax*), aussi bien par le nombre de ses mérozoïtes que par leur aspect et leurs dimensions (comparer la microphotographie 8, pl. IV, avec 15, 16 et 17, pl. V).

On pourrait également penser à la multiplication parthénogénétique de macrogamétocytes, mais il n'en est rien, car les mérozoïtes provenant de parthenogénèse donnent plus tard des formes sexuées mâles qui, en général, disparaissent rapidement dans le sang. Cependant l'étude du sang de notre malade nous a montré que presque tous les mérozoïtes présentent les caractères de schizontes.

Tous ces faits nous permettent d'affirmer avec plus de certitude encore que le parasite décrit par nous constitue une espèce nouvelle.

La maladie causée par lui a cédé facilement à la quinine et le type de fièvre observée doit être considéré comme un type tropical à évolution bénigne.

Deux ans plus tard (été de 1913), cette malade a été de nouveau prise d'une fièvre à type tierce, et dans son sang nous avons trouvé uniquement des schizontes de *Plasmodium vivax*.

En terminant cet article, je voudrais décrire une nouvelle forme de la fièvre tropicale qui se rapproche de celle signalée par Stephens comme causée par le *Plasmodium tenue*.

Nous avons trouvé, dans le sang d'un malade en état comateux, admis à l'hôpital municipal d'Elisabethpol, un grand nombre de parasites (voir microphotographies 18 à 21, pl. V et fig. 5, pl. VI) qui présentent les caractères suivants :

Dimensions assez grandes, noyau volumineux avec chromatine sous forme d'amas arrondis ou de bâtonnets ou d'anneaux, etc.

Le protoplasme du parasite prenait faiblement la coloration et formait des saillies fines et longues qui, dans certains cas (voir microphotographie 18, pl. V), semblaient être des parties surajoutées au noyau.

Les rares formes annulaires ressemblaient plutôt aux piroplasmes, car leurs noyaux à contour faiblement coloré se trouvaient dans la partie la plus large de l'anneau protoplasmique.

Le malade mourut. L'examen du sang, fait quelques heures avant le décès, révéla la présence de rares schizontes

adultes, dont les dimensions atteignaient celles d'un érythrocyte et dans lesquels des granulations de pigment étaient disséminées (microphotographie 23, pl. V).

Les gamétocytes étaient également très grands et de formes irrégulières (microphotographies 14, pl. IV, et 15, pl. V).

En général, les formes de ce parasite étaient si particulières que, si l'on n'avait pas trouvé de formes annulaires, on aurait plutôt pensé à un piroplasme qu'au *Plasmodium præcox*.

On peut interpréter ces formes de deux manières : on peut admettre qu'étant données la gravité de la maladie et l'anémie du sujet, le sang périphérique a été envahi par les formes du parasite qu'on peut seulement observer dans la moelle osseuse, la rate et autres organes profonds ; ou bien, ce qui est plus vraisemblable, que nous avons observé une nouvelle espèce du parasite de la malaria.

Pour terminer, nous devons faire remarquer que la parasitologie de la malaria doit être soumise à une nouvelle étude détaillée et minutieuse.

Il peut se faire que l'existence de différentes espèces du parasite de la malaria explique les variétés cliniques de cette maladie. D'ailleurs, la pluralité de ces espèces peut parfaitement être admise par analogie avec ce que nous savons des autres parasites (piroplasmes, trypanosomes, etc.).

LÉGENDE DES MICROPHOTOGRAPHIES (Pl. IV et V) ET DES DESSINS EN COULEURS (Pl. VI).

Les microphotographies sont faites d'après des préparations colorées par la méthode de Giemsa. *Grossissement* : 1100.

Pl. IV. — *Plasmodium caucasicum*. **1**, **2**, **3**, Formes annulaires. **4**, **5**, Schizonte. On y voit nettement des grains de mélanine. **6**, Début du stade de morula. **7**, Le même vu au grossissement de 2000. **8**, Dernier stade de morula. **9**, Parasite libre trouvé dans le sang (forme de signification douteuse). Gr : 2000.

Pl. IV. — *Plasmodium præcox*. **10**, Mérozoïte. **11**, Formes annulaires. **12**, Stade de morula. Frottis de rate.

13, **14**, *Plasmodium malariæ*. Stade de morula.

Pl. V. — **15**, **16**, **17**, *Plasmodium vivax*. Évolution de la morula.

Plasmodium tenue (?). **18**, **19**, **20**, **21**, Mérozoïte et parasites annulaires. **23**, Schizonte. **24**, **25**, Gamétocyte.

Pl. VI. — **1**, *Plasmodium caucasicum*. **2**, *Plasmodium præcox*. **3**, *Plasmodium malariæ*. Stade de morula. **4**, *Plasmodium vivax*. Stade de morula. **5**, *Plasmodium tenue* (?) — **6**, Voir le Mémoire suivant.

HÉMOPARASITES
TROUVÉS DANS UN CAS DE FIÈVRE CHRONIQUE

par le Dr A. I. FEDOROVITCH.

(Avec les figures 1-3, planche V, et la figure 6, planche VI.)

Nous avons observé un cas de fièvre chronique de type anormal chez un enfant de dix ans, que nous avons eu l'occasion de soigner lors de notre campagne antipaludique sur le littoral de la mer Noire.

Ce malade, anémique, épuisé, présentait un gros ventre ; la rate descendait au-dessous de la ligne ombilicale, le foie était légèrement hypertrophié; nous n'avons rien trouvé d'anormal dans les autres organes. Dans le sang périphérique, pris au niveau du bout de l'oreille, nous avons observé quelques parasites libres dont voici la description. Ils mesurent de 2-3 μ à 7 μ dans leur plus grand diamètre. La plupart des parasites sont de forme ovalaire, allongée, avec une extrémité effilée; d'autres éléments plus petits étaient arrondis ; nous avons rencontré également des formes moyennes, allongées, à contours irréguliers (fig. 1-3, pl. V, et fig. 6, pl. VI). Par la méthode de Giemsa, le protoplasme prend une teinte nettement bleuâtre, mais d'une façon irrégulière. Le protoplasme de quelques parasites isolés est coloré en lilas.

Le noyau est situé tantôt au centre du parasite, comme par exemple dans les formes rondes, ou bien il se rapproche de l'extrémité effilée; arrondi ou ovalaire, se présentant exceptionnellement sous forme allongée ou incurvée, il se colore fortement en rouge (fig. 6, pl. VI).

Il nous a été impossible de découvrir le cycle évolutif de ce parasite dans le sang périphérique.

Nous n'avons pas pu déceler la présence du parasite dans le sang prélevé par la ponction de la rate, pratiquée un mois plus tard.

Cette circonstance nous amène à interpréter avec prudence nos constatations et ce sont les récents travaux de Castellani et Plate qui nous ont incité à publier notre cas.

Castellani a trouvé, dans le sang d'un Cinghalais atteint de fièvre chronique et de splénomégalie, un petit nombre de parasites ronds ou piriformes, vacuolaires, de 7 à 12 μ de diamètre. Le malade est mort rapidement. L'auteur a trouvé dans la rate deux sortes de parasites. Les uns qui ressemblent à ceux que nous avons trouvés dans le sang périphérique de notre malade, les autres d'un type différent. Ceux-ci, plus petits, de 2, 5 à 6 μ, ronds, ovalaires ou semi-lunaires. Leur protoplasme d'une teinte bleuâtre renfermait un grand noyau, central ou périphérique. Castellani a rencontré parfois des formes plus grandes à deux noyaux qu'il a interprétées comme des stades de division ou de copulation. Castellani considère ce parasite comme un *Toxoplasme* et le nomme *T. pyrogenes*.

Plate, ayant examiné les préparations de Castellani, pense que ces parasites sont vraiment des protozoaires, mais difficiles à classer.

Le parasite que nous avons observé est très voisin de celui décrit par Castellani. Comme cet auteur, nous hésitons à le classer, tout en reconnaissant qu'il se rapproche beaucoup des Toxoplasmes.

Cette découverte est d'autant plus intéressante qu'un parasite analogue a été trouvé en 1905 dans le sang d'un chien, présentant des crises périodiques de fièvre ; cet animal provenait de la même région, c'est-à-dire du littoral de la mer Noire.

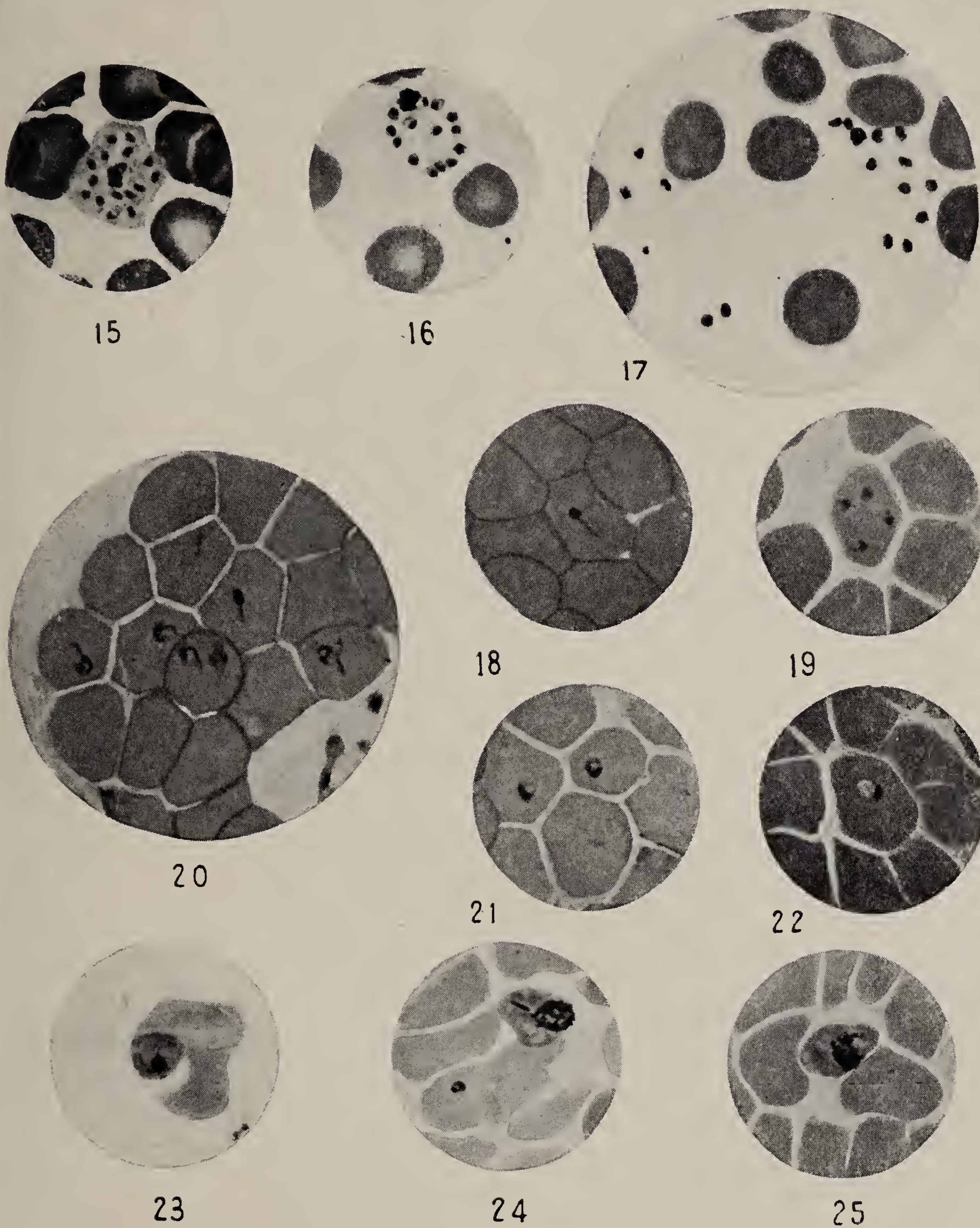
Le Gérant : G. Masson.

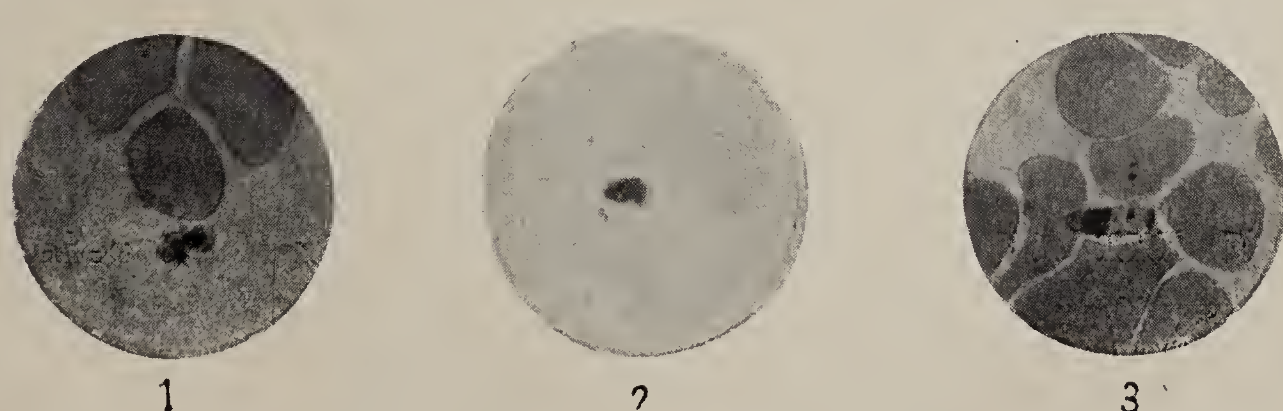
Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1 rue Cassette.



L. Maretheux, imp.

(Mém. Marzinowsky.)





(Mém. Fedorovitch.)

L. Maretheux, imp.

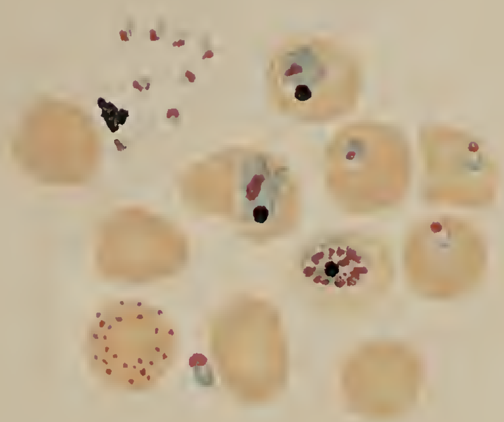


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

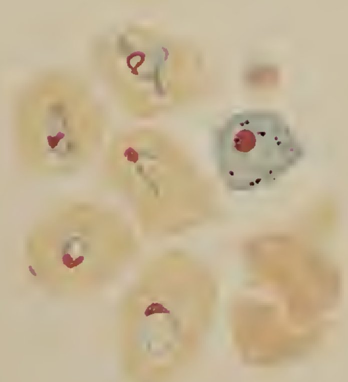


Fig. 5.



Fig. 6.

T. XXX. — 1916. Juin. — Nº 6.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE . **20** francs.

SOMMAIRE DU N° 6

30e ANNÉE JUIN 1916 N° 6

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

L'ARGUMENT DE LA CONTINUITÉ
ET
LES NOUVELLES MÉTHODES EN PHYSIO-PSYCHOLOGIE

par YVES DELAGE et MARIE GOLDSMITH.

De tout temps, le bon sens populaire a prêté aux animaux des facultés psychiques semblables à celles de l'homme et n'en différant que par le degré, variant suivant les espèces, pour s'atténuer progressivement et disparaître tout à fait chez les formes inférieures. Les philosophes d'une part, les biologistes de l'autre se sont demandé ce qu'il y avait de vrai dans cette manière de voir, et, bien entendu, deux courants d'idées opposés se sont manifestés. Les uns ont versé dans cet anthropomorphisme naïf qui consiste à juger les actes des animaux comme s'ils étaient dirigés par des pensées semblables à celles d'un homme qui les aurait accomplis. La littérature demi-scientifique abonde en relations admirables sur l'intelligence des animaux, et certaines observations vraiment scientifiques, mais plus ingénieuses que sagement méditées — telles celles de Fabre — sont venues leur fournir un appui. D'autres auteurs ont suivi une voie contraire et, s'appuyant plutôt sur des

vues philosophiques que sur l'observation, dénient aux animaux toute intelligence, tel Descartes qui les déclare de simples automates agissant comme des mécanismes bien réglés, sans rien comprendre de ce qu'ils font.

Certains biologistes modernes, se réclamant du monisme, veulent éliminer la conscience et les phénomènes psychiques des réactions motrices provoquées par les excitations sensorielles, pour la raison que tous les processus vitaux se ramènent en dernière analyse à des phénomènes physico-chimiques. Ils sont comparables à ceux qui, lors des premières expériences de Pasteur, rejetaient ses conclusions au nom de la génération spontanée, inévitable en dehors de l'intervention d'un Dieu créateur. Nous admettrons, avec ces derniers, que la génération spontanée de la matière vivante s'est produite quelque part, quelque jour, dans des conditions encore ignorées. Cela n'empêche pas que Pasteur avait raison contre ses contradicteurs. De même, on ne peut se refuser à admettre que toute la biologie se ramène en fin de compte, y compris les processus psychiques, à la physico-chimie; cela n'empêche pas que la conscience puisse intervenir dans les réactions des animaux, même invertébrés. Ceux qui nous jettent l'anathème pour penser ainsi font, non œuvre de bon sens, mais acte de démagogie scientifique. Dans un court travail résumant des idées qui auraient mérité de plus longs développements, un des signataires de cet article a cherché à remettre les choses à leur place, en montrant comment, par suite de l'absence du langage, les facultés psychiques des animaux, bien que réelles, s'exercent d'une manière extrêmement différente de celles de l'homme.

Depuis une vingtaine d'années, la question a été réexaminée d'un point de vue différent par un grand nombre de physiologistes, groupés autour de deux protagonistes : Loeb et Pawlow.

La théorie des tropismes de Loeb est plus ancienne en date, et aussi plus radicale, car elle ne s'arrête pas aux phénomènes nerveux et cherche dans les phénomènes chimiques ayant leur siège dans le protoplasme, la cause immédiate des actes attribués au psychisme.

Les tropismes étant identiques chez les plantes et les animaux, Loeb en conclut que ce qui est en cause dans les réactions motrices des animaux, c'est, non le système nerveux,

mais les propriétés générales du protoplasme : si la suppression des cellules ganglionnaires entraîne celle des réflexes, ce serait par l'abolition, non d'un mécanisme élaborateur, mais simplement des voies conductrices. Les nerfs seraient seulement des conducteurs plus rapides et plus sensibles — perfectionnement devenu nécessaire chez les animaux qui mènent une vie libre. Chez certains animaux fixés (vers, ascidies), on voit, en effet, ces réactions motrices se produire après la suppression du système nerveux.

Loeb développe surtout l'exemple du phototropisme. Les deux facteurs de la réaction seraient la symétrie bilatérale et les actions photochimiques. La lumière, en frappant l'un des côtés du corps, déterminerait (par des oxydations) la formation, de ce côté, de substances nouvelles qui agiraient comme excitants directs des réactions musculaires. Celles-ci modifieraient l'orientation de l'animal par rapport à la lumière, jusqu'à diriger vers elle son axe de symétrie, et le mouvement vers la lumière continuerait alors par une co-action égale des deux côtés du corps. Dans le phototropisme négatif, se produirait, par des phénomènes exactement inverses, un mouvement de fuite.

Comme preuve de la nature chimique de ces réactions, Loeb invoque le fait que certaines substances (l'acide carbonique, à un plus faible degré l'alcool, etc.) amplifient les réactions par un processus comparable à celui d'un catalyseur accélérant les réactions chimiques.

Les hésitations que certains auteurs (Jennings) ont cherché à expliquer par le processus psychique des « essais et erreurs », se réduisent, pour Loeb, aux oscillations ondulatoires, conséquence d'un faible phototropisme.

Cette conception a le mérite de la simplicité et de la clarté, mais son auteur lui-même paraît sentir que les tropismes sont insuffisants à expliquer l'immense majorité des mouvements observés, même chez les animaux inférieurs, et, à côté de ce premier facteur, il en introduit deux autres : la *sensibilité différentielle* et la *mémoire associative*. C'est, d'abord, la *sensibilité différentielle*, c'est-à-dire la propriété de réagir, non à une action constante, mais à des changements rapides. Loeb ne propose aucune explication de ce phénomène ; il est probable

qu'il doit se réduire aussi, dans son esprit, à des influences d'ordre chimique, mais son mécanisme ne nous est pas montré. Il constate seulement que la sensibilité différentielle peut considérablement compliquer et masquer les effets des tropismes.

Il en est de même pour la notion d'*instinct*. Loeb se borne à dire qu'on peut réduire toute la complication des instincts à des tropismes divers ; leur transmission héréditaire serait simplement celle de certaines substances chimiques et de la symétrie bilatérale.

La difficulté et le vague augmentent encore lorsque nous arrivons aux facultés psychiques supérieures. Loeb ne peut plus se maintenir sur le terrain chimique et doit recourir à un facteur psychologique : la *mémoire associative*, qu'il définit ainsi : *mécanisme par lequel un excitant provoque*, *non seulement les effets liés à sa nature et à la structure spécifique de l'organe irritable*, *mais aussi des effets appartenant à d'autres excitants qui*, *auparavant*, *ont agi simultanément avec lui*. Par elle, s'expliquent le dressage et l'expérience personnelle. Pour la comprendre, conclut Loeb, ni l'histologie, ni la mesure du temps de réaction, ni les opérations sur le cerveau ne peuvent être utiles. Il faut se demander quelles particularités des substances colloïdales la rendent possible. Mais à cette question, il ne fait aucune réponse. Et, malgré ses efforts pour écarter la conscience, il lui faut recourir à elle sous une forme voilée lorsqu'il dit que les *idées* peuvent jouer le rôle de sensibilisateurs, en augmentant la sensibilité à l'égard de certains excitants, et déterminer ainsi des actes attribués à un psychisme supérieur, tels que le sacrifice de sa vie à une idée.

La théorie des tropismes a inspiré toute une pléiade de biologistes. Si quelques-uns, tels que Bohn, ont sagement atténué ses exagérations, la plupart ont, au contraire, accentué son intransigeance. Ainsi Nuel, Radl ont assimilé aux tropismes la vision ; Radl ne trouve entre le phototropisme d'un animal inférieur et la vision humaine que cette seule différence que le premier réagit par tout son corps, tandis que l'homme, possédant un organe spécial, a la faculté d'arrêter son regard sur un objet déterminé. De même, Bethe a essayé d'expliquer par les tropismes seuls des mouvements aussi compliqués que ceux des fourmis allant chercher de la nourriture et l'appor-

tant à la fourmilière. D'après lui, la présence du fardeau provoque un mouvement réflexe vers le nid, son absence, le mouvement dans la direction inverse. Il y a eu même, dans cet ordre d'idées, des tentatives d'applications sociologiques ; ainsi, Waxweiler fait reposer l'affinité sociale sur des « déterminants physico-chimiques » spéciaux.

L'école de Pawlow aborde tout autrement le problème. Négligeant les animaux inférieurs auxquels s'applique plus spécialement la théorie des tropismes, elle se préoccupe surtout des mammifères supérieurs. De plus, autant la théorie de Loeb est spéculative et part d'une idée chimique *a priori*, autant les recherches de l'école de Pawlow sont faites d'une accumulation d'expériences, d'abord purement physiologiques et dont la portée psychologique ne s'est trouvée mise en lumière que par la suite. Voici l'expérience capitale de Pawlow. La perception gustative, ou même la seule vue de la nourriture, provoque chez le chien la salivation ; si, pendant un certain temps, on joint à la présentation de la nourriture une autre excitation — lumineuse, sonore, tactile ou autre — cette excitation finit par produire le réflexe salivaire même en l'absence de la nourriture. Pawlow et son école appellent réflexes « inconditionnels » ceux qui se produisent naturellement dès l'application de l'excitant, sans réclamer de conditions spéciales, tels que la salivation en présence de la nourriture, et réflexes « conditionnels » ou « associatifs » ceux qui réclament une condition spéciale dans laquelle un nouvel excitant est associé à l'excitant « inconditionnel », par exemple, le son, la lumière, etc., à la présentation de la nourriture. Ces « réflexes conditionnels » ne sont, au fond, autre chose que la « mémoire associative » de Loeb, sous un nom dissimulant leur nature psychique. Pawlow et son école les ont soumis à une étude très approfondie. Ils ont décrit leur « extinction » après un certain temps, leur « inhibition » par de nouvelles excitations, leur « reviviscence », leurs multiples variations de détail, suivant la nature des excitants conditionnels, la possibilité de faire naître des réflexes conditionnels de second degré, c'est-à-dire en associant une nouvelle excitation, non plus à celle fournie par l'aliment, mais à celle qui provoque le réflexe conditionnel, etc., etc... Ces expériences, entreprises pour étudier

la physiologie des organes des sens du chien, ont conduit à des conclusions psychologiques. D'après l'école de Pawlow, toutes les réactions des animaux se ramènent à ces deux catégories de réflexes : inconditionnels et conditionnels ; les actes instinctifs entrent dans la catégorie des premiers. Un acte instinctif est un réflexe déterminé, dans son mode de production, par la nature anatomique et physico-chimique de l'organisme ; il est héréditaire et semblable chez tous les individus de l'espèce. Les réflexes conditionnels sont, au contraire, acquis et variables selon les individus. Toutes les expériences faites sur le comportement des animaux se rapportent à ces réflexes conditionnels.

Dans la conception de l'école de Pawlow, la question de savoir si ces réactions sont conscientes ou non est volontairement laissée de côté; c'est en cela, et aussi dans l'élimination des expressions psychologiques, telles que sensations, images, mémoire, etc., que consiste le caractère « objectif » de la nouvelle école. Elle se fonde pour cela sur l'impossibilité de prouver l'existence des états psychiques chez les animaux ; expliquer l'action de l'animal, c'est *déterminer les conditions physiologiques de cette action*. Avec d'autres, sorties du laboratoire de Bechterew et portant sur les réflexes moteurs chez le chien, les expériences de Pawlow ont formé la base de ce qu'on a appelé la *psychologie objective*, ou encore la *théorie des réflexes*.

Bechterew définit aussi la nouvelle psychologie par l'exclusion du phénomène de la conscience et de l'introspection. Mais sa conception paraît être un peu moins exclusivement physiologique et un peu plus psychologique que celle de l'école de Pawlow. Dans sa terminologie, les réflexes conditionnels deviennent des *psychoréflexes* qui supposent une reviviscence des traces des réflexes antérieurs. C'est pour lui la définition même du *phénomène psychique*. C'est dans cette catégorie qu'il fait entrer tous les processus psychiques supérieurs : jugements, état d'attention (qu'il appelle « concentration nerveuse »), langage, mimique et, enfin, les « réflexes personnels » qui constituent l'attitude caractéristique de l'individu et donnent l'illusion d'une volonté libre.

Malgré ces légères atténuations, la tendance générale de la conception physiologique nouvelle est d'écarter systématique-

ment la conscience de l'explication des phénomènes psychiques, en les ramenant tous à des réflexes plus ou moins compliqués. Ainsi, on raisonne comme si l'animal n'avait pas de perceptions sensorielles, mais seulement des réactions sensorielles, dont on ne recherche pas s'il les ignore ou les connaît.

Le raisonnement des adeptes de la nouvelle école est celui-ci : les phénomènes de conscience ne peuvent être connus que par l'introspection; or, on ne peut faire de l'introspection sur les animaux. Les phénomènes de conscience chez eux ne peuvent donc être étudiés. On ne peut pas même affirmer leur existence. Aussi on ne saurait en tenir compte dans une étude scientifique : il faut les laisser de côté dans l'interprétation des phénomènes psycho-physiologiques et chercher l'explication de ces derniers dans la physiologie pure.

Il n'y a rien à objecter à un raisonnement aussi scrupuleux, sinon que, lorsqu'on a de tels scrupules, il ne faut pas s'arrêter en si beau chemin. Il faut aller jusqu'au bout. Or, le bout, c'est le *cogito ergo sum* de Descartes, symbole de cette conception irréfutable que la seule chose dont nous soyons absolument certains, c'est notre propre pensée. La réalité du monde extérieur est indémontrable et incertaine, non moins indémontrable et non moins incertaine que la conscience des animaux. Faut-il donc nous arrêter à cette conclusion et nous croiser les bras ? On sait comment Descartes a cherché à échapper aux conclusions de son raisonnement. « J'ai, dit-il, des pensées si claires qu'elles s'imposent à ma croyance, et d'autres qui me laissent dans le doute. Le doute est une imperfection. Or le parfait ne saurait procéder de l'imparfait. Donc le parfait existe en dehors de moi : c'est Dieu. Ce Dieu parfait ne saurait avoir mis en moi des idées si claires qu'elles s'imposent à ma croyance et qui cependant seraient fausses. La croyance au monde extérieur est au nombre des idées claires. Donc le monde extérieur existe .» Et voilà surmontée la difficulté qui aboutissait au *cogito ergo sum*. Pour voir ce que vaut le raisonnement, suivons Descartes dans la série de ses déductions. Nous rencontrons bientôt un autre exemple de ces idées si claires qu'elles s'imposent à notre croyance. Le voici : « Le sang circule parce qu'en arrivant au cœur il emprunte à celui-ci une grande chaleur qui le fait se dilater et jaillir dans les artères... » Cette conclusion

montre ce que vaut le raisonnement qui a conduit à l'existence de Dieu et à l'immortalité de l'âme. Descartes n'a donc pu triompher de l'objection qu'il s'était faite à lui-même et personne n'en triomphera jamais. Cela ne veut pas dire qu'il faille s'arrêter au *cogito ergo sum*. Le raisonnement de Descartes prouve que la réalité du monde extérieur ne peut être démontrée, il n'établit pas que la croyance en elle soit une erreur. On reste donc en présence de deux alternatives également indémontrables, mais également possibles : 1° le monde extérieur à nos pensées existe ; 2° ce monde n'existe pas. En l'absence de démonstration irréfutable, cherchons des raisons d'un autre ordre pour choisir entre l'une et l'autre. Si j'admets la formule de Descartes, le monde se réduit pour moi non à *la* pensée mais à *ma* pensée. Les autres humains, les animaux, les choses, les actes des premiers, les propriétés manifestées par les dernières ne sont que des formes de ma pensée. Dès lors, lorsque je dors sans rêver et que ma pensée est supprimée, plus rien n'existe, l'univers est vide. A mon réveil, il se recrée, et ainsi son existence est discontinue, formée de disparitions et de réapparitions indéfiniment renouvelées. Allons plus loin.

Voici devant moi une horloge qui marche. Tantôt je la regarde, tantôt j'en détourne mes regards, pour la regarder de nouveau un instant après. Tout cela, ce sont des formes de ma pensée. C'est entendu. Tant que cette pensée d'horloge est présente en moi (je devrais dire : constitue mon être), elle subit une variation continue. Quand elle disparaît, pour reparaître l'instant d'après, je remarque qu'elle a subi une variation brusque dans l'intervalle ; elle se serait donc modifiée pendant qu'elle était inexistante. On peut échapper à cette difficulté en disant que la deuxième pensée d'horloge est une pensée nouvelle, entièrement indépendante de la précédente, en sorte qu'on n'a pas à lui demander de s'expliquer sur quoi que ce soit, vu qu'elle ne doit rien aux lois d'un monde extérieur inexistant. J'y consens. Mais je remarque qu'une foule innombrable de pensées ont ce bizarre caractère de se présenter comme des choses identiques dans des apparitions successives, sauf une variation continue, et qu'entre deux apparitions successives vient toujours se loger une différence établissant une

discontinuité dans la variation. En un mot, si l'univers est réduit à un moi pensant, il y a dans l'univers, à côté d'une variation continue, une discontinuité systématisée, entièrement inexplicable, tandis que tout devient clair dans l'hypothèse de la réalité du monde extérieur. Ces deux arguments : des destructions et recréations alternantes et de la discontinuité systématisée inexplicable, ne suffisent-ils pas à donner aux deux éventualités en présence desquelles nous laisse le raisonnement de Descartes une probabilité très inégale qui, en l'absence de preuve absolue, doit déterminer notre jugement.

La question actuelle peut être abordée de la même façon. Nous ne sommes certains que de notre propre conscience, et les autres humains pourraient être des automates, comme les animaux dans la théorie de Descartes. Mais cette conclusion ne s'impose pas et, en l'absence d'arguments irréfutables, nous pouvons préférer une des éventualités à l'autre, comme étant infiniment plus simple et plus probable. Le philosophe qui discute avec moi parle de sa conscience comme je parle de la mienne ; il y a donc bien des chances pour que sa conscience soit non moins réelle que la mienne. De celui-ci ne peut-on passer à ce sauvage ramené par un navigateur d'une île inconnue et dont personne ne comprend le langage? Faudra-t-il nier qu'il voit, qu'il a des perceptions sensorielles et, par conséquent, des pensées, parce qu'il est incapable d'affirmer sa conscience en langage intelligible, quand sa manière d'agir en présence des excitations, sa réaction, est la même que la nôtre? Et la barrière que nous n'avons pas voulu placer entre ce sauvage et nous, la mettrons-nous entre lui et ce chimpanzé, ou entre ce dernier et le macaque? Qui laissera-t-on de l'autre côté de la barrière : le chien, l'oiseau, le poisson? La dégradation progressive des centres nerveux et des aptitudes psychiques, c'est-à-dire, en somme, l'argument de la continuité, nous l'interdit. Entre les vertébrés et les invertébrés l'hyatus est plus large, mais il suffit de comparer un poulpe, un crabe, une abeille à un poisson, pour voir que la supériorité de ce dernier est bien faible, si même elle est réelle.

Il faut être aveuglé par l'esprit de système pour nier que le poulpe et le crabe aient des perceptions, c'est-à-dire des états

de conscience, et non de simples réflexes, immédiats ou conditionnels.

Une fois entrés chez les invertébrés, impossible de placer notre barrière : partout continuité dans les structures et dans la nature des réactions. C'est progressivement, insensiblement que la conscience s'atténuera, peut-être sans jamais disparaître tout à fait. Si donc la conscience existe, si elle est un facteur actif dans les réactions motrices consécutives aux excitations sensorielles, annuler ce facteur de peur de le mal interpréter, c'est commettre une erreur certaine par crainte d'une erreur éventuelle, c'est faire comme Gribouille qui se plongeait dans l'eau pour ne pas être mouillé par la pluie.

Ce qu'il faut faire, ce n'est pas négliger le facteur conscience, mais l'étudier par l'intermédiaire de ses réactions. Puisqu'on ne peut introspecter en dehors de soi, il faut extrospecter et non se boucher les yeux. Il faut éviter l'anthropomorphisme, mais sans verser dans un mécanomorphisme qui consisterait à traiter les animaux comme des mécanismes inconscients. En outre que ce serait faire outrage à la vérité, cela pourrait conduire aux pires conséquences morales, en justifiant les horreurs de la vivisection abusive, dispensée *larga manu*, sans raison suffisante.

D'ailleurs, il ne faut pas s'y méprendre : cette prétendue réforme dans la méthode psychologique se réduit à bien peu de chose. Dire : réflexes conditionnels au lieu de mémoire associative, réaction à la lumière au lieu de perception lumineuse, inhibition du réflexe conditionnel au lieu d'oubli d'une relation apprise, c'est changer les mots et non les choses, car ces réflexes conditionnels, ces réactions, ces inhibitions devront être étudiés de la même façon qu'on eût étudié la mémoire et ses variations. Il n'y a qu'un mot de changé.

Verba et voces pretereaque nihil.

ACTION DU BISMUTH
SUR LA SPIRILLOSE DES POULES

par A.-EUG. ROBERT et B. SAUTON.

L'action antiseptique du bismuth a été peu étudiée, probablement à cause de la décomposition immédiate de la plupart de ses sels, en présence d'eau. Certains de ces composés restent pourtant inaltérés, même à chaud, en solution aqueuse et l'un de nous a précédemment observé que ces produits solubles entravaient, à faible dose, la culture du bacille tuberculeux (1).

Nous avons étudié l'influence de quelques combinaisons stables de cet élément sur un grand nombre de germes, soit dans les cultures, soit dans l'organisme animal. Le présent travail résume nos expériences relatives à l'action du bismuth — que ses propriétés chimiques rapprochent de l'arsenic et de l'antimoine — sur le *Spirochæta gallinarum* (Marchoux et Salimbeni).

Nous avons utilisé pour ces premières recherches le bismuthotartrate de sodium, préparé selon les indications de Cowley (2). Les solutions aqueuses de ce composé, parfaitement neutres, peuvent être stérilisées à l'autoclave; elles sont stables en présence de la plupart des sels, du sérum, etc.; elles précipitent pourtant par les sels de calcium. Nous nous sommes servis dans tous nos essais de solutions contenant exactement 1 p. 100 de bismuth, et tous les résultats ci-dessous se rapportent aux doses de cet élément et non à celles de bismuthotartrate.

Toxicité. — Par la voie veineuse, la quantité de bismuth

(1) Sauton. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 17 janvier 1914.
(2) Cowley, *The Chem. a Drugg.*, LXXXII, p. 212, 1913.

supportée par la poule saine est de 30 à 35 milligrammes par kilogramme; elle est seulement de 15 à 20 milligrammes pour les animaux infectés de spirilles. L'injection intramusculaire de 100 milligrammes de bismuth par kilogramme est supportée sans aucun inconvénient par les poules saines. Dans ce dernier cas, le bismuth est en partie fixé et insolubilisé sous forme d'un dépôt blanc, abondant, dans les tissus, où on peut mettre sa présence en évidence après plus de quinze jours par simple touche au sulfhydrate d'ammoniaque.

Action in vitro. — Lorsqu'on mélange à parties égales du sang provenant d'une poule fortement infectée de spirilles avec une solution exactement neutre de bismuthotartrate de sodium, correspondant à 1 p. 100 de bismuth, le *Spirillum gallinarum* n'y perd pas sa mobilité après trois jours.

Action in vivo. — *Mode opératoire.* Nous avons employé comme virus un sang non dilué, très riche en spirilles. Nous en avons injecté aux animaux en expériences des doses de 0,5 cc. ou 0,2 cc., qui nous ont toujours donné des résultats identiques.

Dans nos essais de traitement curatif, l'injection du sel bismuthique a été pratiquée au moment où les spirilles apparaissaient dans le sang, vingt-quatre ou trente heures après l'infection. L'examen attentif de préparations par étalement suivant la méthode de Burri permet alors de déceler environ un spirille dans plus de cinquante champs microscopiques. C'est le moment où il est le plus difficile d'enrayer la spirillose.

Dans les tableaux qui résument nos observations, nous avons noté de la manière suivante le nombre approximatif des spirilles :

+	un spirille dans plus de 50 champs microscopiques;
++	un à cinq spirilles dans 50 champs microscopiques;
+++	un spirille par 5 champs;
++++	un spirille par champ;
+++++	plusieurs spirilles par champ;
++++++	spirilles innombrables, amas.

Essais de traitement préventif. — L'injection intraveineuse de 20, 25 ou 30 milligrammes de bismuth par kilogramme, pratiquée vingt-quatre heures avant l'inoculation de 0,5 cc. de sang infectant, retarde d'un jour l'apparition des spirilles; la

ESSAIS DE TRAITEMENT PRÉVENTIF

POULES :	Témoins									
Numéro	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
Poids en gr.	2.320	1.860	2.000	2.360	2.400	1.830	2.620	2.400	1.890	2.430
1er jour	....	....	....	Injection intramusculaire des doses suivantes de bismuth (grammes par kilogramme) :						
				0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07
2e jour	Infection par 0,2 c.c. de sang.									
3e jour	+	+	++	—	+	+	—	—	++	—
4e jour	+++	++	++++	—	—	+	—	+	+++	—
5e jour	+++++	+++++	+++++	—	—	—	—	—	++	—
6e jour	++++++	++++++	++++++ Morte.	—	—	—	—	—	—	—
7e jour	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8e jour	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9e jour	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10e jour	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

maladie évolue ensuite d'une manière normale, probablement à cause de l'élimination trop rapide du sel ou de son insolubilisation partielle dans l'organisme. Tout au contraire, dans les mêmes conditions de temps, l'injection intramusculaire de 50 à 70 milligrammes de bismuth par kilogramme a une action efficace. Les légères irrégularités qu'on peut relever dans les résultats consignés ci-dessous proviennent des différences de résistance individuelle des animaux et surtout de ce que le bismuthotartrate, plus ou moins fixé dans le muscle au point d'inoculation, ne circule pas dans l'organisme en proportions toujours comparables.

Injection du sel de bismuth quelques heures après l'infection. — Ce mode de traitement exerce toujours une action empêchante sur le développement ultérieur des germes. A aucun moment on ne trouve de spirilles dans le sang d'une poule traitée, par voie veineuse, six heures après l'infection, par la dose — d'ailleurs mal supportée — de 20 milligrammes de

TRAITEMENT PAR UNE INJECTION DE BISMUTH

POULES	TÉMOINS							
Numéro	1	2	3	4	1	2	3	4
Poids en gr. . .	2.550	2.000	1.680	1.780	1.650	1.890	2.700	2.950
1er jour					Six heures			
	....	....	....	....	0,020	0,020	0,020	0,015
2e jour. . . .	++	+	+	++	—	—	—	—
3e jour. . . .	+++	++	++	+++	—	Morte.	Morte.	—
4e jour. . . .	+++++++	+++	++++	++++	—	.....	.....	—
5e jour. . . .	++++++	+++++	+++++++	++++++	—	.....	....	—
6e jour. . . .	—	++++++ Morte.	—	—	—	.....	.....	—
7e jour. . . .	—	....	—	—	—	.....	.....	—
8e jour. . . .	—	....	—	—	—	.....	.....	—
9e jour. . . .	—	....	—	—	—	.....	.....	—
10e jour. . . .	—	....	—	—	—	.....	.....	—

bismuth par kilogramme. Dans les mêmes conditions, l'injection de 15 milligrammes ne prévient pas la maladie d'une manière régulière; quand elle se déclare, elle est d'ailleurs bénigne et cède toujours à une seconde injection. Le traitement par 10 milligrammes apporte seulement un léger retard dans l'apparition des spirilles; la maladie évolue ensuite comme chez les témoins.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats en pratiquant deux injections successives de bismuthotartrate, six heures et trente heures après l'inoculation des spirilles. Ceux-ci n'ont jamais apparu dans le sang des animaux traités par deux doses de 15 milligrammes. Nous avons obtenu des résultats également positifs dans une proportion de quatre cas sur cinq par les deux injections de 10 milligrammes ou par celles, successives, de 10 et 5 milligrammes. Il est à noter que ces deux dernières doses ont une action plus efficace qu'une dose unique et équivalente de 15 milligrammes, parce qu'elles renouvellent le

IX HEURES APRÈS L'INFECTION

5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
.380	2.885	2.095	2.000	2.050	2.490	2.490	2 370	3.000	3.040	2.070
rès l'infection, injection des doses suivantes de bismuth (gr. par kilogr.) :										
Injection intraveineuse :									Inj. intramusculaire.	
,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,010	0,010	0,060	0,070
—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
—	—	+++	—	+++	++	++	+	++	+	++
—	—	++++	—	+++	Une seconde injection de 15 milligrammes a arrêté l'infection.	Une seconde injection de 15 milligrammes a arrêté l'infection.	++++	++++	—	—
—	—	++++++	—	—			++++++	++++++	—	—
—	—	—	—	—			—	—	—	—
—	—	—	—	—			—	—	—	—
—	—	—	—	—			—	—	—	—
—	—	—	—	—			—	—	—	—
—	—	—	—	—			—	—	—	—

TRAITEMENT PAR DEUX INJECTIONS DE BISMUTH,

POULES	TÉMOINS						
Numéro . . .	1	2	3	4	5	6	7
Poids en gr. .	2.350	2.780	1.950	2.050	3.120	2.630	2.245
1er jour. . .	…	…	…	…	…	…	…
2e jour. . .	+	+	+	+	+	++	+
	…	…	…	…	…	…	…
3e jour. . .	++	++	++	++	+++	+++	++
4e jour. . .	++++	++++	++++	++++	+++++	+++++	++++
5e jour. . .	+++++	++++++	++++++	++++++	++++++	++++++ Morte.	++++++
6e jour. . .	++++++ Morte.	…	…	…	…	…	…
7e jour. . .	…	…	…	…	…	…	…
8e jour. . .	…	…	…	…	…	…	…
9e jour. . .	…	…	…	…	…	…	…
10e jour. . .	…	…	…	…	…	…	…

bismuth circulant dans l'organisme, où il a tendance à se fixer.

L'injection intramusculaire de 60 à 70 milligrammes de bismuth par kilogramme quatre heures après l'infection retarde et atténue considérablement la maladie. Les spirilles n'apparaissent dans le sang des animaux ainsi traités qu'en très petit nombre et pendant un temps très court.

Essais de traitement curatif. — Lorsque, après l'apparition des premiers spirilles, on traite l'animal infecté par une injection intraveineuse de 12 ou 15 milligrammes de bismuth par kilogramme, la spirillose prend plus souvent une forme atténuée et les poules traitées ne présentent généralement plus de germes dans le sang, au moment où l'infection est maxima chez les témoins. En intervenant plus tardivement, 48 ou 72 heures après l'infection, on constate encore une action nettement curative du bismuth et la maladie ne revêt jamais la

SIX ET TRENTE HEURES APRÈS L'INFECTION

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1.990	2.180	2.050	1.850	2.200	3.140	2.620	2.420	3.300	3.050	3.300	2.100	2.190	2.800	2.360	2.550	2.370
Six heures après l'infection, injection intraveineuse des doses suivantes de bismuth (gr. par kilogr.) :																
0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0.010
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Trente heures après l'infection, injection intraveineuse des doses suivantes de bismuth (gr. par kilg.):																
0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,005	0,005	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
—	—	Morte.	Morte.	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	++	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—	—	+++	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	+++++++ Morte.	—	—	—	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	....	—	—	—	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	....	—	—	—	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	....	—	—	—	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	....	—	—	—	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	—	—	....	—	—	—	—	—

forme aiguë, qui, dans nos expériences, a provoqué la mort des animaux non traités dans une proportion de 33 p. 100.

Toutefois, les résultats les plus nets sont obtenus en traitant les animaux infectés par deux injections intraveineuses successives de 10 milligrammes par kilogramme, trente et quarante-huit heures après l'inoculation des spirilles. Les germes ne se développent plus dans le sang ou insensiblement après la première injection; ils ont toujours diparu vingt-quatre heures après la seconde. Les animaux traités conservent un très bon aspect et n'accusent pas, comme les témoins, une diminution considérable de poids.

ESSAIS DE TRAITEMENT CURATIF PA

POULES	TÉMOINS					TRAITEMENT APRÈS 16 HEURES		
Numéro. . . .	1	2	3	4	5	1	2	3
Poids en gr. . .	2.060	1.960	2.650	2.885	2.440	1.990	2.390	1.900
1er jour . .	Tous les animaux sont infectés							
2e jour. . .	+	+	++	+	++	—	—	—
						Doses de		
						0,015	0,015	0,015
3e jour. . .	++	++	+++	++	+++	— Morte.	+	+
4e jour. . .	++++	++++	++++	+++	++++	.....	—	++++
5e jour. . .	++++++	++++++	++++++	+++++	+++++	.....	—	—
6e jour. . .	+++++ Morte.	—	—	++++++	++++++ Morte.	.....	—	—
7e jour. . .	....	—	—	....	....	.....	—	—
8e jour. . .	....	—	—	....	....	....	—	—
9e jour. . .	....	—	—	....	....	....	—	—
10e jour. . .	....	—	—	....	....	.....	—	—

Conclusions.

De ces premières expériences, il résulte que le bismuthotartrate de sodium, contrairement à ce qu'on observe *in vitro*, exerce une action bactéricide sur le *Spirochæta gallinarum* dans l'organisme animal. Son influence, très nette, puisque nous avons pu prévenir et guérir l'infection dans un nombre de cas proportionnellement élevé, ne s'est pourtant pas manifestée dans nos essais avec toute la régularité désirable. Ceci tient probablement à la nature de la combinaison bismuthique utilisée qui, d'après nos constatations, peut perdre son activité par suite de sa fixation ou de son insolubilisation. Il est à pré-

UNE INJECTION INTRAVEINEUSE DE BISMUTH

TRAITEMENT APRÈS 24 HEURES								TRAITEMENT APRÈS 48 HEURES			TRAITEMENT APRÈS 3 JOURS	
4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
890	2.130	2.400	2.160	2 880	2.520	2.200	2.550	2.450	1.780	1.710	2 000	1.910
par 0,5 c. c. de sang.												
+	+	+	++	++	+	++	++	+	+	+	+	+
bismuth (gr. par kilogramme) :												
0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,012	0,012					
+++	—	+ Morte.	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++
								Doses de Bi (gr. par kil.) :				
								0,015	0,015	0,015		
—	+	.....	++ Morte.	—	—	++	+++	++	++	++	++++	++++
											Doses de Bi (gr. par kil.) :	
											0,015	0,010
—	—	.....	.....	—	—	—	+++++	—	— Morte.	— Morte.	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	.....	......	—	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	.....	......	Morte.	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	.....	......	....	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	.....	.....	....	—
—	—	.....	.....	—	—	—	—	—	.....	.....	....	—

sumer, et nos expériences, brusquement interrompues à la fin de juillet 1914 par la guerre, confirmaient déjà cette hypothèse, qu'on obtiendrait de meilleurs résultats par l'emploi de composés bismuthiques susceptibles de mieux circuler à l'état soluble dans l'organisme. Nous espérons poursuivre un jour nos recherches inachevées, sur cette voie-là, mais nous pouvons dire déjà que nous avons observé l'efficacité constante du bismuth quelle que soit la nature de la combinaison chimique dont il fait partie.

L'étude de la spirillose des poules ne présentant d'ailleurs qu'un intérêt théorique, nous espérons pouvoir une fois exposer les résultats de nos expériences interrompues concer-

ESSAIS DE TRAITEMENT CURATIF PAR

POULES	TÉMOINS						
Numéro . . .	1	2	3	4	5	1	2
Poids en gr.	2.120	1.680	1.780	1.950	2.450	3.500	1.970
1er jour . .	Tous les animaux sont infectés						
2e jour. . .	+	+	++	+	+	++	++
						0,010	0,010
3e jour. . .	++	++	+++	++	+++	++	+++
						0,005	0,005
4e jour. . .	++++	++++	++++	+++++	++++	—	+
5e jour. . .	+++++	+++++++	+++++++	+++++++	+++++++	—	—
6e jour. . .	+++++++ Morte.	—	Morte.	—	—	—	—
7e jour. . .	....	—	....	—	—	—	—
8e jour. . .	....	—	....	—	—	—	—
9e jour. . .	....	—	....	—	—	—	—
10e jour. . .	....	—	....	—	—	—	—

nant l'action du bismuth sur la fièvre récurrente et sur la syphilis.

Nos premiers essais de traitement préventif et curatif des affections à trypanosomes nous ont donné, chez le cobaye, des actions positives comparables par l'emploi des composés suivants : phosphate soluble, hyposulfite double de potassium et de bismuth, bismuthotartrate de sodium, citrate ammoniacal.

DEUX INJECTIONS INTRAVEINEUSES DE BISMUTH

3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2.030	1.570	2.380	2.500	2.420	1.440	1.600	2.760	2.550	1.950
par 0,5 c.c. de sang.									
++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Première injection : Doses de bismuth (grammes par kilogramme) :									
0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
++	++	++	+	+++	+++	+	++	++	++
Seconde injection : Doses de bismuth (grammes par kilogramme) :									
0,005	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
—	—	—	—	—	—	—	—	—	++
—	—	—	—	—	—	—	—	—	++++ Morte.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	

La connaissance des éléments chimiques actifs contre ces diverses infections tire une partie de son intérêt de l'accoutumance souvent constatée des germes, qui les provoquent, aux différents remèdes. La multiplicité des moyens de traitement paraît être une condition favorable de la lutte contre ces maladies. A ce titre, nous espérons que nos premiers résultats, pour incomplets qu'ils soient, ne seront pas dépourvus de tout intérêt.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

LES FERMENTS LACTIQUES ET LA CONSERVATION EN SILOS DES FOURRAGES DESTINÉS A LA NOURRITURE DES ANIMAUX

par J. CROLBOIS.

Dans toutes les régions qui cultivent la betterave pour la fabrication de l'alcool ou du sucre, on a l'habitude de compter sur les pulpes de betteraves pour l'alimentation du bétail pendant la mauvaise saison; aussi cette conservation des pulpes, dont le poids correspond aux deux tiers environ de celui des betteraves mises en œuvre et qui se chiffre par millions de tonnes pour la production annuelle des usines françaises, présente-t-elle une très grande importance.

Ces pulpes ensilées, abandonnées à elles-mêmes, subissent les fermentations les plus diverses, ce qui ne permet pas une conservation régulière, produit de mauvaises odeurs et provoque dans certains cas la formation de principes nocifs qui occasionnent des désordres dans la santé des animaux qui en sont nourris (entérite, diarrhée, maladie de la pulpe). Mais dans ces fermentations diverses, à côté des microbes nuisibles, nous en trouvons d'autres utiles, comme les ferments lactiques.

Il était donc intéressant, en se basant sur les travaux de M. Metchnikoff sur le rôle précieux des ferments lactiques pour empêcher les putréfactions intestinales, de rechercher un ferment lactique se développant rapidement dans les cossettes épuisées et permettant de les conserver plus facilement. Après de nombreux isolements de ces microbes provenant de pulpes, de choucroute, etc., j'ai cultivé un ferment lactique se développant parfaitement dans les pulpes de distillerie. C'est avec ce ferment que les premiers essais ont été faits en grand dans

une distillerie agricole de l'Oise où l'on ensemençait en silos, par jour, environ 40.000 kilogrammes de pulpes provenant du traitement de 70.000 kilogrammes de betteraves, soit près de 3 millions de kilogrammes pour la campagne; les résultats publiés dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* (t. **149**, p. 411, 1909), ont été les suivants :

Avec l'ensemencement, l'odeur souvent repoussante que l'on constate auprès des fosses à pulpes a disparu pour faire place à une odeur franche, comme celle des pulpes sortant des diffuseurs. L'engraissement des animaux (bœufs) nourris avec ces pulpes a été hâté de près de trois semaines; il n'y a jamais eu un bœuf constipé ou ayant de la diarrhée. D'autre part, les agriculteurs ont constaté souvent une mortalité considérable chez les jeunes agneaux nourris de pulpes de distillerie; or, avec cette pulpe, 350 agneaux ont été élevés sans aucun accident et les excréments de ces animaux étaient de la même couleur que lorsqu'ils sont au pâturage.

C'est alors que M. Malpeaux, directeur de l'Ecole d'Agriculture de Berthonval (Pas-de-Calais), qui, en collaboration avec M. le professeur Lefort, avait publié de nombreux travaux sur l'ensilage des pulpes, voulut bien à son école poursuivre de nouvelles expériences sur l'alimentation et comparer la valeur nutritive des pulpes ordinaires et des pulpes ensemencées avec ce ferment lactique; leurs conclusions confirment pleinement les premières expériences :

Les pulpes ainsi traitées se conservent beaucoup mieux que celles mises en silos dans les conditions habituelles.

La pulpe ensemencée a une odeur fraîche; les cossettes conservent exactement la forme qu'elles avaient en sortant des presses, tandis que les cossettes des pulpes non ensemencées sont molles, présentent un aspect gras et forment, prises en masse, une bouillie épaisse.

Les animaux acceptent plus facilement la pulpe ensemencée que la pulpe ordinaire; ils semblent la manger avec plus d'appétit et même avec avidité.

Mettant en comparaison, dans des expériences poursuivies sur les moutons, la pulpe ordinaire et la pulpe ensemencée, en employant dans la ration des poids égaux de chacune d'elles, les résultats obtenus ont été les suivants :

A l'ouverture des silos, les pulpes présentaient la composition suivante :

	ENSEMENCÉE	NON ENSEMENCÉE
	—	—
Eau	89,2	91,10
Matières azotées.	1,06	0,85
Matières grasses	0,18	0,13
Hydrates de carbone	2,85	2,30
Autres extractifs non azotés . .	3,65	2,96
Cellulose	1,98	1,00
Matières minérales	1,09	1,09
Azote alimentaire	0,150	0,123
Acidité.	0,82	0,86
Matières sèches	10,8	8,9

Deux lots de six moutons ont reçu alternativement pendant deux périodes consécutives de trente jours :

Ration avec la pulpe ensemencée.

		MATIÈRES sèches	MATIÈRES azotées	MATIÈRES grasses	HYDRATES de carbone
Pulpe ensemencée .	20.000 gr.	2.160 gr.	188 gr.	36 gr.	570 gr.
Tourteau de lin . . .	1.500	1.315	395	153	476
Féverolles.	1.300	1 114	220	14	500
Menues pailles . . .	1.500	1.260	21	20	342
Paille	4.000	3.428	32	16	1.424
	Total :	9.277 gr.	856 gr.	239 gr.	3.512 gr.

Ration avec la pulpe ordinaire.

		MATIÈRES sèches	MATIÈRES azotées	MATIÈRES grasses	HYDRATES de carbone
Pulpe ordinaire . . .	20.000 gr.	1.780 gr.	154 gr.	26 gr.	460 gr.
Tourteau de lin. . .	1.500	1.315	395	153	476
Féveroles	1.300	1.114	220	14	500
Menues pailles . . .	1.500	1.260	21	20	342
Paille	4.000	3.428	32	16	1.424
	Total :	8.897 gr.	822 gr.	229 gr.	3.202 gr.

La pulpe ensemencée a été consommée plus facilement que la pulpe ordinaire ; à chaque repas la ration était intégralement utilisée.

Les excréments des animaux présentaient un aspect verdâtre au lieu d'avoir cette couleur noirâtre qui caractérise les déjections des bêtes nourries avec la pulpe ordinaire.

Les deux lots de moutons ont été pesés à jeun à différentes reprises, les résultats sont les suivants :

	POIDS		AUGMENTATION	
	initial	final	totale	par tête et par jour
1re *période* (30 jours) :				
Lot n° 1, pulpe ordinaire. .	170 kil.	204 kil.	34 kil.	0,189
Lot n° 2, pulpe ensemencée.	170 kil.	208 kil.	38 kil.	0,271
2e *période* (30 jours) :				
Lot n° 1, pulpe ordinaire. .	208 kil.	241 kil.	33 kil.	0,183
Lot n° 2, pulpe ensemencée.	204 kil.	244 kil.	40 kil.	0,223

Les augmentations constatées sont donc :

Avec la pulpe ensemencée	1re période :	38 kilogr.
	2e — :	40 kilogr.
	Total.	78 kilogr.
Avec la pulpe ordinaire	1re période :	34 kilogr.
	2e — :	33 kilogr.
	Total.	67 kilogr.

Soit une différence de 11 kilogrammes en faveur des moutons nourris avec la pulpe ensemencée.

Nous voyons que l'ensemencement des pulpes avec les ferments lactiques permet non seulement d'obtenir une meilleure conservation et de réduire les pertes de matières nutritives, mais il présente l'avantage de donner des produits plus nutritifs, mieux consommés par le bétail et supprime les maladies auxquelles se trouvaient exposés les animaux nourris avec des pulpes non ensemencées.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

NOUVELLE CONTRIBUTION A L'ANALYSE EXPÉRIMENTALE DE LA FÉCONDATION PAR LA PARTHÉNOGÉNÈSE

par M. E. BATAILLON.

L'analyse de la Fécondation chez les Amphibiens nous a révélé trois temps séparables : *l'activation*, *une régulation indépendante de l'amphimixie*, *et enfin l'amphimixie*.

1° *L'activation provoque* tout à la fois la deuxième émission polaire, l'élimination de fluides qui rend l'œuf inaccessible aux spermatozoïdes, et une série plus ou moins étendue de phénomènes cinétiques tardifs, irréguliers, abortifs. Elle est *isolée* par le simple contact d'un spermatozoïde étranger, par un traumatisme, par les chocs induits, par l'action des carbures, etc.

2° *La régulation accélère* la première cinèse et *provoque* une extension du système hyaloplasmique centré compatible avec un clivage régulier : je l'ai attribuée à des principes nucléaires actifs (*caryocatalyse*). *On l'isole*, soit par inoculation de cellules libres quelconques, soit par fécondation au moyen du sperme de l'espèce irradiée (Hertwig). Dans tous ces cas, l'évolution est dirigée par le seul pronucléus femelle.

3° *L'Amphimixie* est un processus surajouté, non indispensable à la construction de la forme spécifique; il ne concerne essentiellement que le mélange des caractéristiques individuelles.

La *Parthénogénèse traumatique* ne comprend que les deux premiers temps : ils suffisent à déclencher l'embryogénèse. La marche des cinèses, rectifiée par inoculation à l'œuf d'un noyau étranger, incapable d'Amphimixie, nous met en présence d'un rôle banal des substances nucléaires. C'est la caractéristique la plus frappante de la Parthénogénèse traumatique. Je puis faire

hommage de quelques données sur ce sujet à l'éminent biologiste dont l'une des gloires, et non la moindre, est d'avoir été l'initiateur de nos connaissances générales sur les cellules libres de l'organisme.

I. — La régulation par inoculation d'un élément étranger.

Le sang, la lymphe et les pulpes tissulaires diverses empruntés aux *Vertébrés* fournissaient bien, dans mes expériences antérieures, le complément indispensable à l'activation. Je n'avais rien tiré des cellules libres d'*Invertébrés*.

Opérant cette année avec les œufs de *Rana fusca*, dépouillés de leur gangue par le cyanure, j'ai obtenu l'*embryogénèse complète* en usant du contenu des vésicules séminales du *Lombric*, de la glande hermaphrodite de l'*Helix*. Les résultats ont été nuls avec plusieurs *Chitinophores* (Écrevisse, Dytique, Ascaris). En tout cas, *il n'est pas indispensable de recourir aux Vertébrés : des cellules libres empruntées à certains Vers et Mollusques se sont montrées efficaces et ont permis d'obtenir des têtards*.

Un deuxième point à rapprocher de cette absence de spécificité, c'est que *la régulation paraît avoir des degrés*. Dans mon expérience de l'an dernier avec le sang défibriné de *Cheval*, j'ai signalé les résultats merveilleux fournis par la couche leucocytaire (jusqu'à 80 p. 100 de *segmentations régulières*). Mais je dois ajouter que, si la plupart de ces ébauches *gastrulaient*, *elles ne dépassaient pas la gastrula*. Par contre, les lymphocytes de la rate du *Cobaye* conduisent facilement l'œuf à l'éclosion. Usant cette année de la pulpe testiculaire de l'*Anodonte*, je constatai fréquemment des clivages un peu tardifs, mais d'une grande précision et atteignant le pôle vitellin. Une certaine régulation est indiscutable, et pourtant *la gastrulation fait défaut*. Quels sont les troubles qui conditionnent l'arrêt aux divers stades? C'est une difficulté cytologique de plus à ajouter à toutes celles que soulève l'expérimentation.

II. — L'activation.

a) *Un réactif de l'activation sur les œufs dépouillés de leur gangue par le cyanure.*

Au cours d'essais infructueux pour inoculer du *sang d'Ecrevisse* à des œufs de *Rana fusca*, il m'arriva de voir ces *œufs vierges nus* se gonfler et se détruire *tous* en moins de deux minutes. Je m'assurai que ce sang était souillé de *suc hépato-pancréatique*. Il va être établi que *ce suc permet de trier à coup sûr les matériaux fécondés ou activés.*

Fécondez un stock de *Rana fusca* avec du sperme très dilué. Traitez au bout d'un quart d'heure par le cyanure à 8 p. 1.000. Après 2 h. 1/2 ou 3 heures, les gangues sont dissoutes : les œufs sont lavés rapidement à l'eau. Ils ne sont pas encore divisés. Exposez-les par lots d'une douzaine au suc hépato-pancréatique. Dans chaque lot, un certain nombre (3 ou 4 dans mon expérience) se gonflent, s'aplatissent; bientôt leur membrane distendue éclate et finit par se dissoudre. Les autres restent turgides avec leur membrane intacte, et *tous* se diviseront. On constate que les témoins conservés se divisent dans la proportion des deux tiers. *Ce sont les œufs fécondés qui résistent au suc, et on peut ainsi en faire le triage avant la segmentation.*

Mais cette résistance relève de l'*activation seule* et n'implique nullement l'appoint nucléaire du sperme ou d'une cellule étrangère.

La même expérience a été répétée maintes fois avec des œufs vierges traités simplement par les chocs induits. Dégagés ensuite par le cyanure, *ils résistent tous, comme les fécondés.*

Ces matériaux réfractaires sont restés plus de quinze heures turgides et intacts dans le suc qui détruit les œufs vierges en deux minutes.

J'employais d'abord l'extrait brut de deux hépato-pancréas dans 20 cent. cubes de NaCl à 7 p. 100, ou dans 20 cent. cubes d'eau distillée : cet extrait était simplement centrifugé. Mais j'usai ensuite avec le même succès du *précipité alcoolique repris par l'eau.* L'extrait de deux glandes dans 20 cent. cubes d'eau distillée était additionné de 10 vol. d'alcool absolu. Le précipité desséché était redissous dans 20 cent. cubes de NaCl à 7 p. 1.000. Le liquide en question, même dilué au 1/10, détruisait les œufs vierges comme le produit brut.

Je le soumis à l'épreuve de la chaleur : s'il supporte impunément 57° pendant un quart d'heure, 10 minutes à 65° le rendent absolument inactif.

Je ne pouvais m'arrêter à l'analyse d'un système diastasique complexe . C'est un réactif appliqué à un cas tout spécial, et il est possible que les glandes des Vertébrés fournissent son analogue.

Mais l'action destructive qu'il provoque rappelant dans une certaine mesure le gonflement cytolytique décrit par Loeb chez les Echinodermes, j'essayai de produire l'activation par le contact très rapide de solutions très étendues : jusqu'ici mes tentatives sont restées sans succès.

b) *Analyse de l'activation par le suc hépato-pancréatique.*

Dès 1906, j'avais signalé un autre réactif de l'activation sur les œufs fécondés ou actionnés par le simple contact d'un spermatozoïde étranger. Les fixateurs faibles (comme la liqueur de King) respectent la forme des œufs vierges, mais gonflent extraordinairement les œufs activés de *Pelodyte* ou de *Calamite*. Par ce moyen, j'ai montré depuis que le changement d'état, bien que rapide, n'est pas instantané, qu'il n'implique pas l'afflux de l'eau extérieure, comme la *cytolyse* selon Loeb.

Il y avait intérêt à user du suc hépato-pancréatique pour préciser, sur *les œufs au cyanure* de *Rana* et de *Bufo*, le moment de la réaction. Ici, les œufs nus *sont activés par les chocs induits ou la piqûre à la sortie du cyanure.*

Le tableau suivant donne une idée du temps au bout duquel la résistance est manifeste :

Action du suc hépato-pancréatique sur les œufs activés de *Rana fusca*.

TEMPS APRÈS ÉLECTRISATION OU PIQÛRES	POURCENTAGE DES ŒUFS ÉLECTRISÉS qui résistent	POURCENTAGE DES ŒUFS PIQUÉS qui résistent
5 minutes	0	0
10 minutes	0	0
20 minutes	50 p. 100	0 } Les hernies débutent à la piqûre.
40 minutes	90 p. 100	0 }
75 minutes	100 p. 100	0 }
90 minutes	100 p. 100	100 p. 100

Il est visible que la résistance n'est pas acquise instantanément, que le traumatisme laisse d'abord les œufs plus vulnérables (ici la résistance se dessine plus tardivement et plus brusquement).

J'ai donc préféré l'usage des chocs induits. Il y a des variantes suivant l'état des œufs. Voici le délai minimum relevé pour trois types :

Avec des stocks de *R. fusca* lavés très rapidement à la sortie du cyanure et immédiatement activés, *tous les œufs résistaient au bout de* 30 minutes. Dans les mêmes conditions, ce délai minimum était 20 *minutes* pour les œufs de *B. vulgaris*; il tombait à 10 minutes pour ceux de *B. calamita. La réaction qui modifie le plasma et qui consolide la membrane sous l'afflux de l'eau paraît fonction de la taille des éléments* (1).

En tout cas, *l'œuf activé se comporte vis-à-vis de notre réactif comme l'œuf fécondé.* Et, sans attribuer un sens excessif à sa résistance, il serait difficile d'en tirer argument en faveur d'un accroissement de perméabilité. J'ai toujours considéré plutôt que la réaction consécutive à l'activation (*à l'épuration*) restaure la structure plasmatique alvéolaire avec la semi-perméabilité relative, structure qui fixera chez nos œufs des caractères spécifiques comme les localisations germinales (Brachet et Herlant). L'état de turgescence de l'élément devenu semi-perméable explique sa déformation sous les fixateurs faibles. Cet état s'oppose à la flaccidité de l'œuf vierge qui, vis-à-vis des mêmes réactifs, paraît se comporter osmotiquement comme un crible.

Mais il y a une lacune entre l'instant de l'activation et celui

(1) Il reste, dans cette voie, bien des faits à préciser. Si les œufs activés sont reportés dans le sel à 7 p. 1.000 au lieu d'être mis à l'eau ordinaire, ils restent vulnérables au suc hépato-pancréatique et se détruisent (même après 18 heures, *mêmé divisés*). La destruction des œufs divisés prouve que la modification subie par la membrane est indépendante du changement plasmatique qui la précède et qui conditionne le déclenchement de l'activité interne.

L'action inhibitrice de la solution saline n'est pas une simple question de pression osmotique : dans la solution de saccharose isotonique, l'œuf acquiert la résistance comme dans l'eau.

Les œufs qui ont acquis la résistance dans l'eau la conservent dans NaCl. Toutes ces expériences seront développées ailleurs. Notre réactif, défini comme nous l'avons vu, s'applique aux œufs libérés de leur gangue par le cyanure et traités comme il a été dit.

où la réaction se manifeste, une lacune qui varie de 10 à 30 minutes dans mes essais, suivant le type auquel on s'adresse. Il me paraissait difficile que les conditions de perméabilité fussent invariables pendant cette période.

III. — La conductibilité des œufs vierges, activés ou fécondés.

Comme Mc Clendon chez les œufs d'Oursins, j'ai fait ici des mesures de conductibilité ou plutôt de résistance.

Des œufs utérins de *Rana fusca* et de *Bufo calamita* remplissent une boite rectangulaire à fond de paraffine. Deux parois opposées verticales sont des lames de verre; les deux autres sont des électrodes, de 1,5^{cmq} de section et distantes de 1 centimètre. Les fils qui en partent sont raccordés avec le pont de Wheatstone. Après mesure de la résistance, on les relie à la bobine qui sert aux expériences d'activation. L'activation demande quinze secondes. Immédiatement après, les fils sont de nouveau raccordés au pont, et les mesures se succèdent à différents intervalles.

Voici les résultats des deux opérations :

Mesures de résistance.

Œufs de *Rana fusca.*		Œufs de *Bufo calamita.*	
État	Résistance en Ohms	État	Résistance en Ohms
Vierges	245 ω	Vierges	278 ω
Électrisés depuis :		Électrisés depuis :	
4 minutes.	219	3 minutes	235
10 minutes.	219	24 minutes	222
20 minutes.	222	40 minutes	237
32 minutes.	234	90 minutes.	237
65 minutes	234		
90 minutes.	238		

Il y a dans les deux cas *un accroissement indéniable de conductibilité après l'application des chocs induits. Mais bientôt cette conductibilité diminue, sans toutefois revenir à ce qu'elle était chez les œufs vierges.*

Il convient de remarquer : 1° que les mesures sont faites sur des œufs *non immergés après l'activation*; 2° que l'expérience porte sur un temps limité.

Les *œufs de Grenouille* de la première opération, reportés à l'eau au bout de 1 heure et demie, étaient en parfait état; ils se sont *tous orientés et incisés irrégulièrement* dans la suite.

Ceux de la deuxième (*Bufo calamita*), abandonnés dans leur cuve, ne donnaient plus, après quatre heures, qu'une résistance de 219 ohms (ces œufs plus fragiles étaient *visiblement altérés*).

La première expérience, indiscutablement la meilleure de par l'état et le sort ultérieur des matériaux, nous révèle donc, *à partir de trente minutes environ, un relèvement significatif de la résistance*. Il y a une *concordance frappante entre ce relèvement et le moment où l'œuf activé devient réfractaire à l'hépato-pancréas.*

Mais nos œufs de *Bufo calamita* montrent la même oscillation. J'en dirai autant des essais que j'ai pu faire en opérant de la même façon sur *des œufs vierges au cyanure*. Il semblerait qu'ici l'absence de gangue donne plus de garanties d'exactitude. Malheureusement la fragilité de ces matériaux entassés est très grande, et j'ai pu simplement, par des expériences multiples, m'assurer du parallélisme des résultats.

Lillie attribue aux deux traitements de Loeb dans le cas de l'Oursin deux effets de même ordre, mais antagonistes. L'activation accroît la perméabilité, mais le traitement hypertonique consécutif l'abaisse (1).

Si, comme on vient de le voir, il y a un abaissement spontané de *la conductibilité, consécutif à la hausse d'activation* (*qui est indéniable*), on pourrait penser au moins que le deuxième traitement parthénogénésique accentue notre deuxième oscillation et réalise un *optimum de résistance*.

J'ai donc voulu comparer *les changements de résistance déterminés par la fécondation*.

Pour les œufs de *Rana fusca*, certaines modifications avaient été apportées à mon dispositif.

En vue d'une comparaison, il vaut mieux revenir à l'appareil décrit

(1) Lillie admet bien la réversibilité complète de cette perméabilisation chez l'œuf d'Astérie où *le seul traitement formateur de la membrane provoque le développement complet*. Mais tel n'est pas le cas des Amphibiens.

ci-dessus et qui a été repris tel quel pour des essais sur *Rana esculenta*. Voici les données d'une expérience parfaitement réussie, où *tous les œufs étaient bien fécondés et ont évolué normalement après les mesures*. Mis au contact du sperme pendant cinq minutes seulement, *le matériel utérin*, soigneusement égoutté, était porté immédiatement dans la cuve à expériences, de façon que l'imbibition fût réduite au minimum et que les mesures pussent commencer avant que la traversée des spermatozoïdes fût achevée.

Les chiffres sont ici plus élevés; mais je noterai que la cuve n'était pas pleine, et que la section aux électrodes était peut-être réduite de moitié. La fécondation étant faite à 6 h. 12, les mesures commençaient à 6 h. 21, soit neuf minutes après l'imprégnation ; elles finissaient à 7 heures.

Mesures de résistance.

(Œufs de *Rana esculenta* fécondés.)

TEMPS après l'imprégnation	RÉSISTANCE
9 minutes	811 ohms.
12 minutes	707 —
15 minutes	753 —
16 minutes 1/2	776 —
19 minutes	776 —
24 minutes	776 —
30 minutes	788 —
38 minutes	788 —
45 minutes	788 —
48 minutes	788 —

Si nous adoptons le nombre 811 pour la résistance des œufs encore vierges (non touchés par le sperme), de façon à apprécier la chute et le relèvement de fécondation avec les nombres 707 et 788, il est visible que *ces oscillations sont, aussi rigoureusement que possible, proportionnelles à celles que nous avons notées chez les œufs activés de Rana fusca*.

Loeb et Wasteneys se sont assurés récemment que le traitement correcteur hypertonique n'introduit aucun changement appréciable dans les oxydations de l'œuf d'Oursin activé ; que l'hypertonie n'accélère pas davantage ces oxydations sur l'œuf fécondé.

On voit que, chez nos œufs d'Amphibiens, *les variations de conductibilité paraissent identiques pour l'activation simple et la fécondation*.

IV. — Conclusions sur les facteurs parthénogénésiques.

S'il y a bien, au départ d'une évolution parthénogénésique, *deux temps* distincts, isolables expérimentalement, *rien actuellement, en dehors des mouvements internes, ne nous permet de définir le second; ni les oxydations, ni la conductibilité ou la perméabilité, ni la résistance à des agents destructeurs* (*tel le suc hépato-pancréatique de Crustacés appliqué à l'œuf de Batraciens*), *ni l'action osmotique des fixateurs faibles.*

a) *La seule activation provoque*, après une chute rapide, *un relèvement de la courbe de résistance.* Ce relèvement *correspond* au mouvement des fluides qui rend l'œuf réfractaire à certains principes cytolysants; il *traduit* la restauration dans l'œuf de la structure alvéolaire d'activité (1).

De l'activation simple relève également l'apparition des localisations germinales, marquée chez nos œufs de Batraciens par le croissant gris (Brachet et Herlant).

Il y a, dans le premier acte de la parthénogénèse, autre chose qu'un changement *direct*. Pour ce changement direct, on peut parler de *perméabilisation, de cytolyse. Le changement d'état qui aboutit aux localisations ne saurait rentrer dans le même cadre*; c'est plutôt la réaction automatique de l'œuf contre la cytolyse, contre la perméabilisation.

Dans l'activation, il faut distinguer le problème général du problème spécial à l'œuf, à la parthénogénèse et à la fécondation. L'effet immédiat paraît intéresser l'œuf comme le muscle ou un élément vivant quelconque; et les hypothèses qu'on émettra sur ce point donneront l'illusion facile d'une « analyse fouillée » (Delage). Personne ne saurait contester l'intérêt de ces hypothèses. Mais l'analyse concrète de l'activation dans un

(1) Au moins chez les Batraciens, je ne crois pas qu'il s'agisse d'un retour vers l'état initial de l'œuf vierge. En tablant sur les oscillations de conductibilité, on attribuerait trop facilement à l'œuf vierge une perméabilité moindre qu'à la structure alvéolaire des matériaux activés. Or je ne puis comprendre l'action si étonnamment différente des fixateurs faibles que par une plus grande perméabilité de l'œuf vierge. J'interpréterais plutôt par des dissociations l'accroissement initial de conductibilité, l'apparition de l'état spumeux nous ramenant à une structure qui, à la maturité, était déjà profondément troublée.

cas comme celui de l'œuf dépasse le changement direct, dépasse l'action immédiate du facteur externe ; il y a, ici comme ailleurs, la forme de la réaction qui dépend de l'équilibre antérieur.

b) On introduirait volontiers la même confusion en ce qui touche le *deuxième facteur*. L'expérimentateur précipite et régularise une série de processus irréductibles actuellement *à l'action directe*. Tablant, pour mon compte, sur la parthénogénèse traumatique, j'ai mis en cause le déficit nucléaire. Un noyau étranger, indépendamment de toute Amphimixie, accélère et équilibre la cinèse du pronucléus femelle par extension du système hyaloplasmique centré. J'ai suggéré, pour le cas de l'Oursin, un accroissement des substances nucléaires au stade monaster, stade prolongé par le deuxième traitement. Loeb lui-même remarque aujourd'hui comme moi que ses traitements sont « de nature à retarder la cinèse ». J'imagine qu'ici l'évolution spéciale du pronucleus femelle substituerait au contingent additionnel d'un noyau étranger (xénocatalyse) une autocatalyse expérimentale.

J'ai attribué l'extension du système hyaloplasmique centré à des principes nucléaires actifs. Et Godlewski regrette que mon hypothèse ne précise pas s'il s'agit de phénomènes d'enzymes en rapport avec les oxydations, ou d'autres processus. Ma réponse sera simple ; ces principes sont vraisemblablement les mêmes qui président au changement hyaloplasmique au début de toute cinèse. *Je cherche à dégager ce qu'il y a de spécial à l'œuf*, les ressorts multiples qui définissent provisoirement le déclenchement d'une ontogénèse ; *et on me demande de solutionner un problème général*.

Le mécanisme général de l'activation, le mécanisme général de la réversibilité des états colloïdes dans le cycle des cinèses, avec les processus d'assimilation qui le conditionnent : je me demande si ce n'est pas *toute la Biologie cellulaire*.

Dijon, le 5 juin 1914.

RECHERCHES

SUR LES AMIBES DANS LA PYORRHÉE ALVÉOLAIRE ET LES AUTRES STOMATOPATHIES

par le Dr JOSEPH MENDEL

(Avec la planche VII.)

(Travail fait au Laboratoire du Dr Salimbeni, à l'Institut Pasteur.)

La présence des amibes dans la cavité buccale n'est point une constatation nouvelle. Divers auteurs : Gros, Sternberg, Grassi, Flexner, Cartulis, Provazek, Verdun et Bruyant, ont mis ce fait en évidence et ont donné de cet organisme des descriptions dont quelques-unes demeurent classiques. Cependant, jusqu'aujourd'hui, les amibes de la bouche n'ont suscité qu'un médiocre intérêt. On s'accordait à les considérer comme des saprophytes banaux et accidentels de la bouche, dépourvus de pathogénicité et sans portée pour le pathologiste.

Les recherches toutes récentes de A. Chiavaro poursuivies au laboratoire de Grassi, à Rome, celles de Smith et Barret, de Evans et Middelton, de Bass et Johns, aux États-Unis, ont fait surgir le problème, délaissé ou négligé jusqu'alors, du rôle pathogène des amibes de la bouche. Les auteurs américains, en particulier, tendent à attribuer à cet organisme une influence prépondérante dans la genèse de l'affection désignée sous le nom de « Pyorrhée alvéolaire ». « La cause spécifique de la pyorrhée alvéolaire, déclarent Bass et Johns, est l'*Endamoeba buccalis* associée vraisemblablement à d'autres espèces. » L'opinion des autres auteurs américains penche sensiblement vers la même conclusion, réserve faite pour quelques cas exceptionnels où ils n'ont pas trouvé d'amibes.

Se basant sur la présence, presque constante, des amibes dans le pus des pyorrhéiques, ces auteurs ont inauguré une

thérapeutique antiamibienne par le chlorydrate d'émétine, et les résultats favorables obtenus, dans un certain nombre de cas, par ce traitement ont servi d'argument principal pour étayer l'hypothèse de l'origine amibienne de la pyorrhée.

Le professeur Chiavaro, dans sa belle étude sur le même sujet, reconnaît bien la présence des amibes dans le pus de la pyorrhée, mais il se refuse à les considérer comme un facteur actif dans la production de cette affection.

En présence du retentissement notable que ces idées ont provoqué de l'autre côté de l'Atlantique, il nous a semblé bon d'entreprendre une série de recherches en vue de contrôler les faits rapportés ainsi que les conclusions que l'on est enclin à en dégager.

Bien que le rôle des amibes dans la pyorrhée alvéolaire soit le point principal de ce travail, nous avons voulu élargir le cadre de ces recherches et envisager le sujet d'une façon plus générale.

Notre étude a donc porté :

1° *Sur la morphologie des amibes de la bouche* ;
2° *Sur la présence des amibes* :
  a) Dans la pyorrhée alvéolaire,
  b) En dehors de toute pyorrhée,
  c) Dans les suppurations aiguës et chroniques d'origine dentaire (abcès alvéolo-dentaire),
  d) Dans les suppurations aiguës d'origine gingivale,
  e) Dans les gingivo-stomatites aiguës,
  f) Dans les accidents aigus et chroniques provoqués par l'éruption de la dent de sagesse,
  g) Dans la carie dentaire.
3° *Sur les essais du traitement de la pyorrhée par le chlorhydrate d'émétine.*

Morphologie des amibes.

L'étude des amibes à l'état vivant dans une goutte d'eau physiologique n'est point aisée, vu la faible mobilité de cet organisme et l'abondance d'éléments cellulaires dans le liquide examiné. L'adjonction d'un colorant vital et particuliè-

rement du rouge neutre facilite beaucoup l'examen. On distingue alors nettement au milieu de nombreux leucocytes le protoplasma légèrement rose des amibes avec leurs vacuoles digestives dont le contenu se colore en rouge plus ou moins foncé. En maintenant le porte-objet à une température convenable, on peut pendant longtemps suivre leurs déplacements dont le mécanisme, très simple, peut se décomposer en deux temps qui se succèdent doucement sans solution de continuité : progression de l'ectoplasma, d'abord, sous forme d'un pseudopode épais, arrondi, généralement unique; progression de l'endoplasma, ensuite, qui semble couler dans l'ectoplasma en mouvement.

Une constatation intéressante est l'absence de vacuole contractile.

Pour permettre une étude morphologique précise, le concours de méthodes de coloration plus complètes est indispensable.

Diverses méthodes de fixation et de coloration furent mises à contribution au cours de ces recherches : frottis humides et desséchés, fixation au Bouin-Dubosc, au sublimé alcoolique de Schaudinn, coloration à la laque ferrique et au Giemsa. Pour les recherches de diagnostic clinique nous avons adopté uniformément la méthode panoptique May-Grünwald-Giemsa qui nous a toujours donné des résultats nets et sûrs. Voici comment nous procédions :

Une goutte d'eau physiologique est disposée sur une lame. A l'aide d'un stylet fin on prélève entre les dents un peu de matière grisâtre qui s'y trouve en petite quantité, même dans les bouches les mieux entretenues, et que l'on étale rapidement dans la goutte d'eau ; on agite vigoureusement. Dès que la dessiccation est obtenue, on fait agir la solution de Giemsa (3 gouttes pour 2 cent. cubes d'eau distillée). On lave avec un fort courant d'eau pour enlever les précipités. On peut avec avantage faire agir le May-Grünwald avant que la dessiccation soit parfaite : la différenciation de la substance plasmatique est ainsi rendue plus nette. Mais alors, il faut avoir soin de ne pas exposer le frottis à un fort courant d'eau durant le lavage. On obtient ainsi des préparations dont la lecture est très facile et qui ne laisse aucune prise à l'hésitation.

Sur une bonne préparation colorée de la sorte on distingue nettement les différents éléments constitutifs de l'amibe : l'*ectoplasma,* en bleu pâle, formant les contours, ovales, arrondis ou irréguliers de l'amibe ; l'*endoplasma*, en bleu plus foncé, constituant la masse fondamentale de l'organisme. En un point variable de l'endoplasma, au centre ou vers la périphérie, se trouve le *noyau*. Il se présente sous forme d'un large anneau de substance chromatique, prenant au Giemsa une teinte qui peut varier du rose au rouge violet clair ; au centre de cet anneau un point faiblement teinté, le nucléole. Parfois, on observe deux nucléoles. L'anneau est parfois scindé en deux ou trois fragments, laissant entre eux une légère solution de continuité ; souvent, surtout quand il est situé vers la périphérie, il apparaît aplati, elliptique. Examiné à un fort grossissement l'anneau est constitué de fines granulations affectant une disposition rayonnante. Nous avons pu observer, bien que rarement, des noyaux allongés, bilobés, les deux lobes étant de dimensions inégales ; ou bien deux noyaux entièrement séparés. Nous avons vu parfois des amibes de très petites dimensions, 5 ou 6 μ, n'être constituées que d'un simple fragment protoplasmique où l'on ne discerne point de noyau organisé et seulement quelques granulations chromatiques. Sur les frottis traités par la *laque ferrique*, le noyau est le plus souvent régulièrement rond. Il se détache comme un petit cercle noir, membrane du noyau, autour d'un point central : le nucléole ; souvent un petit fragment de la substance chromatique est accolé à la membrane, l'épaissit sur une certaine étendue ou même fait hernie à l'intérieur. Il n'est pas exceptionnel d'observer deux noyaux dans une amibe.

En outre du noyau on distingue dans l'endoplasma un nombre variable de vacuoles digestives, les unes vides ou remplies de bactéries, les autres renfermant des substances se colorant en rouge foncé, au Giemsa, et en noir à la laque ferrique, et qui sont des fragments de leucocytes phagocytés à des stades divers du processus digestif. Le nombre des vacuoles contenant des résidus leucocytaires augmente d'ordinaire avec les dimensions des amibes. Les amibes de petite dimension possèdent souvent une ou deux vacuoles vides ; parfois on n'en distingue aucune.

La taille des amibes de la bouche varie, selon nos mensurations personnelles, de 5 à 40 μ.

Le mécanisme de reproduction de ces amibes demeure encore l'objet d'opinions divergentes. Provazek admet la reproduction par simple division directe. Lœwenthal, et plus récemment Chiavaro, ont décrit le processus de multiplication par division indirecte. Notre attention a été particulièrement portée sur ce point et, malgré de nombreuses préparations que nous avons examinées, nous n'avons pu trouver d'exemples nets de division par voie de mitose. La grande difficulté du problème réside dans la présence de multiples inclusions au sein de l'amibe : fragments leucocytaires, bactéries de formes et de dimensions variées. Or, tout comme le noyau, ces masses se colorent plus ou moins fortement en noir par la laque ferrique et, par leur nombre, constituent un obstacle considérable à l'observation du phénomène. Le même fait s'observe avec le Giemsa ; plus d'une fois nous avons vu les noyaux et un certain nombre de corps d'inclusion prendre des tons tout à fait semblables. En pareille occurrence une grande réserve s'impose à ceux qui redoutent les erreurs d'interprétation. La même réserve nous est imposée en ce qui concerne la question des kystes. Sans doute, nous avons observé des formations susceptibles d'être considérées comme des éléments enkystés, mais qui n'autorisaient point d'affirmation précise.

Présence des amibes dans la pyorrhée alvéolo-dentaire.

Nous avons examiné 40 malades atteints de cette affection : 28 femmes et 12 hommes. La majorité était d'un âge variant de trente-cinq à cinquante ans ; le plus jeune avait dix-neuf ans, la plus âgée soixante-cinq. L'état général de ces malades était peu satisfaisant : 2 étaient des syphilitiques avérés, avec réaction de Wassermann positive ; 5 avaient du sucre dans les urines ; 2 jeunes femmes souffraient d'obésité ; 2 de l'asthme ; 4 d'accidents de lithiase hépatique ou rénale ; la plupart étaient atteints de troubles gastro-intestinaux : dyspepsie, constipation, entérite, entérocolite, etc.

Dans ce nombre nous avons pu discerner les modalités cliniques les plus variées de la pyorrhée, depuis les lésions

discrètes confinées à 1 ou 2 dents et accompagnées d'une sécrétion à peine décelable, jusqu'aux désordres anatomo-pathologiques profonds frappant des régions étendues de l'appareil dentaire, occasionnant des suppurations abondantes aptes à retentir fâcheusement sur la santé générale du sujet. Bien entendu, seuls les accidents pyorrhéiques à point de départ gingival furent ici retenus; les suppurations ayant leur origine dans une carie pénétrante sont classées à part.

La présence des amibes a été reconnue dans 38 cas sur 40. Il convient d'ajouter que parmi les deux cas négatifs un seul est vraiment net. Il s'agit d'une dame âgée de quarante-cinq ans, de santé médiocre et ayant subi entre autres deux opérations abdominales à la suite d'une crise d'appendicite. Les lésions de la pyorrhée sont très prononcées : expulsion spontanée de plusieurs dents, déviations dentaires très marquées, suppuration, etc. Le liquide purulent fut examiné à plusieurs reprises et à des époques différentes; le prélèvement fut fait aux dents du haut et du bas et dans les différentes régions de la bouche. Absence complète d'amibes.

Le deuxième cas concerne une dame de soixante ans, ancienne pyorrhéique guérie en 1909. Depuis quelques mois une de ses dents non atteintes précédemment présentait des symptômes légers de la pyorrhée. Dans l'exsudat prélevé au collet de la dent malade, il fut impossible de découvrir la présence d'amibes.

Le nombre des amibes était, dans tous les cas examinés, assez élevé pour rendre leur recherche facile; certains sujets, les plus jeunes dans ma statistique, paraissaient offrir à leur développement des conditions particulièrement propices; il nous a paru aussi qu'elles sont plus abondantes à la mâchoire inférieure. Le plus souvent on les trouve en paquets au milieu des amas de bactéries et des agglomérations de leucocytes plus ou moins bien conservés. Autre constatation intéressante : les pyorrhées à faible sécrétion nous ont donné des préparations plus riches en amibes que les pyorrhées à sécrétion abondante. Toute goutte de pus qui jaillit au niveau du collet ne renferme pas nécessairement des amibes. Il faut insinuer l'instrument entre la gencive et la dent dans le fond de la poche purulente pour les recueillir plus sûrement; il est préférable

de faire le prélèvement au niveau des points où les lésions sont peu profondes. On peut dire, toutes choses étant égales, que le brossage minutieux et régulier des dents et des gencives constitue le moyen le plus actif pour en restreindre le nombre : c'est surtout le matin, avant le brossage des dents, que l'examen révèle l'abondance des amibes.

Nous arrivons ainsi à conclure que la présence des amibes dans l'exsudat purulent de la pyorrhée alvéolaire s'observe d'une manière presque constante. C'est là un fait digne de sérieuse considération. Est-il suffisant pour proclamer la prépondérance de leur action dans les phénomènes pathogéniques de la pyorrhée? Nous ne le pensons pas. Tout ce qu'il est permis de dire, c'est que ces micro-organismes trouvent chez ces malades un milieu buccal favorable à leur existence et à leur développement.

Cette manière de voir se confirme par les constatations que nous avons faites sur les personnes indemnes de cette affection.

Présence des amibes dans la bouche des personnes indemnes de pyorrhée.

42 adultes et 36 enfants furent examinés à cet effet.

Parmi les adultes, nous avons cherché de préférence des personnes jeunes de vingt à quarante ans; la plus âgée avait soixante ans. Certains sujets offraient des caries multiples, d'autres, peu de dents cariées, ou point. L'état d'hygiène buccale était tantôt excellent, tantôt médiocre, tantôt défectueux. Même diversité en ce qui touche les conditions de la santé générale : nous nous sommes efforcé de recueillir tous les renseignements susceptibles de nous éclairer sur ce point.

Les enfants, dont la plupart étaient soignés à l'hôpital Pasteur, étaient choisis de manière à comprendre tous les âges depuis onze mois jusqu'à quatorze ans. L'hygiène buccale était généralement satisfaisante, l'usage de la brosse étant assez régulièrement observé.

Sur les 42 adultes, les amibes furent trouvées 24 fois, soit 57 p. 100; sur les 36 enfants 8 fois, soit 22 p. 100.

Tous les caractères morphologiques reconnus aux amibes de

la pyorrhée se retrouvent ici : même constitution du noyau et du protoplasma, même forme et dimension; même aptitude à phagocyter les leucocytes.

Notons que dans le groupe de « porteurs d'amibes » nous n'avons retenu que des personnes dont les frottis montraient des amibes en nombre assez élevé; si l'on voulait admettre dans ce groupe les cas où l'on en trouvait seulement quelques rares unités, le nombre de porteurs d'amibes serait sensiblement plus grand.

L'analyse des conditions particulières à ce groupe de 78 cas indemnes de pyorrhée nous a conduit à admettre une distinction entre les personnes dont la bouche est bien entretenue et celles dont la bouche est négligée.

Dans les bouches mal entretenues nous avons toujours trouvé des amibes dans la masse caséeuse qui recouvre les dents. Leur nombre cependant n'a jamais été aussi grand que dans certains cas de pyorrhée.

Dans les bouches soigneusement entretenues on trouve des amibes dans près de la moitié des cas.

En examinant avec soin les observations touchant les personnes de ce groupe, notre attention a été attirée par certains faits qui méritent d'être mis en relief. Tout d'abord, en ce qui concerne l'état général, nous avons souvent reconnu l'existence de quelque trouble, organique ou fonctionnel, susceptible, par sa constance, de faire fléchir la résistance normale du sujet à l'influence des facteurs pathogènes. Une autre constatation, d'ordre local, est la suivante : dans la plupart des cas où nous avons trouvé des amibes en nombre élevé, on les a vus coïncider avec une modification nette de l'exsudat gingival; *la leucocytose normale de l'exsudat fait place à un état d'hyperleucocytose plus ou moins marquée.* Cet afflux exagéré des éléments leucocytaires s'observe surtout dans les interstices dentaires, points où la gencive, ayant perdu sa tonicité normale, adhère moins intimement au collet de la dent, expose l'espace péricervical, normalement clos, à toutes les sources de contamination. Ce sont aussi les points les moins accessibles à l'action de la brosse et aux soins de l'hygiène buccale. Il y aurait une exagération évidente à considérer cet état comme une manifestation de la vraie pyorrhée; néanmoins il est permis

de dire que sa persistance pourrait, à la longue, aboutir à des lésions pyorrhéiques.

Présence des amibes dans les accidents suppurés aigus et chroniques à point de départ dentaire.

Il était intéressant de reconnaître si les amibes pouvaient jouer quelque rôle pathogénique dans l'éclosion des collections purulentes ayant leur origine en une carie pénétrante. Nous avons examiné le pus de douze abcès alvéolo-dentaires. Nous n'y avons pas trouvé d'amibes. Morphologiquement on a pu y discerner la présence de streptocoques et de staphylocoques, d'un diplocoque et, une fois, l'association d'un spirille avec un bacille fusiforme à l'exclusion presque totale de tout autre organisme.

Par contre, nous avons trouvé de nombreuses amibes dans deux cas de suppuration chronique, quand le pus, après avoir détruit les attaches ligamenteuses et décollé les solides faisceaux de l'anneau cervical, arrive à se faire jour et à s'écouler entre la gencive et la racine, simulant les apparences de la vraie pyorrhée.

Présence des amibes dans les accidents aigus à point de départ gingival.

Il arrive parfois que des corps étrangers, alimentaires ou autres, sont violemment poussés entre la gencive et la dent, décollant la gencive et réalisant un état infectieux offrant les allures d'un abcès alvéolaire aigu. L'examen du pus provenant de trois abcès de cette origine a démontré l'absence des amibes. On y reconnaît surtout la présence des spirilles et d'un diplocoque dont l'identité n'a pas été recherchée.

Présence des amibes dans la gingivo-stomatite aiguë.

Nous avons eu l'occasion de soigner deux cas de gingivo-stomatite aiguë d'une violence exceptionnelle, tous les deux chez des militaires. L'origine de ces accidents paraissait attribuable à

quelque contact suspect et il a fallu un traitement rigoureux d'une quinzaine de jours pour remettre les choses en état.

L'exsudat gingival examiné à plusieurs reprises a été, dans les deux cas, exempt d'amibes.

Présence des amibes dans les états infectieux dus à l'éruption de la dent de sagesse.

Les accidents muqueux dus à l'éruption anormale de la dent de sagesse sont fréquents. Le décollement de la muqueuse autour de la couronne partiellement évoluée crée des réceptacles admirablement organisés pour recueillir et retenir les matières septiques, source de multiples accidents. Les amibes y joueraient-elles quelque rôle?

Nous avons examiné le liquide purulent contenu dans ces clapiers muqueux. Dans toutes les manifestations aiguës (5 cas examinés) il n'y avait point d'amibes. Par contre, dans les suppurations chroniques, sur 4 cas examinés, nous avons trouvé des amibes 3 fois.

Présence des amibes dans la carie dentaire.

15 cas de carie dentaire, simple et compliquée, furent examinés. Nous y avons trouvé nombre de bactéries, des cellules épithéliales, de rares leucocytes à peine reconnaissables, mais point d'amibes. Dans trois cavités dentaires, bien adaptées à l'expérience, nous avons laissé séjourner plusieurs jours du coton hydrophile. L'examen de la matière qui imprégnait le coton a démontré l'absence des amibes.

Une fois cependant, dans une dent très cariée extraite chez un ouvrier dont la bouche était fort négligée, nous avons reconnu un certain nombre d'amibes.

Nous croyons donc pouvoir dire que les amibes de la bouche n'exercent aucune influence sur le développement de la carie dentaire.

On conçoit que, dans une carie en évolution active, la réaction habituellement acide qui y domine constitue une condition défavorable à leur présence et leur développement. Notons aussi que chez une jeune femme dont les dents portaient de

multiples obturations, et qui étaient le siège de plusieurs caries à allure rapide, nous avons obtenu des frottis particulièrement riches en amibes.

Essai de traitement de la pyorrhée alvéolaire par le chlorhydrate d'émétine.

Les résultats excellents que certains auteurs prétendaient avoir obtenus dans le traitement de la pyorrhée alvéolaire par le chlorhydrate d'émétine nous ont vivement incité d'essayer ce médicament. Disons tout de suite que les grandes espérances que nous y avions fondées furent nettement déçues. Nous avons utilisé cette substance en instillations dans les poches suppurantes et en injections intragingivales à la façon des injections anesthésiques ; nous sommes allé même jusqu'à utiliser des solutions plus concentrées que celles préconisées par les auteurs américains et nous n'avons dans aucun cas (sur 8 malades traités) obtenu de résultat probant. Le chlorhydrate d'émétine utilisé nous a été procuré par la direction de l'hôpital Pasteur.

Conclusions.

1° La présence des amibes dans la cavité buccale de l'homme est un fait d'une assez grande généralité et n'est nullement la caractéristique exclusive de l'affection désignée sous le nom de *pyorrhée alvéolaire*.

2° On rencontre des amibes dans presque tous les cas de pyorrhée alvéolaire.

3° Dans les bouches mal entretenues nous avons toujours trouvé des amibes au milieu de la masse caséeuse qui recouvre les dents.

4° Dans les bouches bien entretenues on trouve des amibes dans près de *la moitié des cas*. La présence des amibes aurait alors, selon nous, une signification sémiologique intéressante : *elle coïnciderait, d'une manière générale, avec un fléchissement plus ou moins marqué de la résistance normale du sujet; elle s'accompagne, d'autre part, presque toujours, d'un état d'hyperleucocytose de l'exsudat gingival; elle pourrait donc être consi-*

dérée comme symptomatique d'une certaine prédisposition à la pyorrhée alvéolaire.

5° Dans les différents états infectieux aigus que l'on observe d'ordinaire dans la cavité buccale, les amibes furent invariablement absentes. Par contre, dans les états infectieux chroniques la présence des amibes est fréquente.

6° La pratique rationnelle de l'hygiène buccale constitue le meilleur moyen, sinon de réaliser l'exclusion complète des amibes, du moins d'en réduire notablement le nombre.

BIBLIOGRAPHIE

Gros. — *Bulletin de la Société des Naturalistes de Moscou*, 1849, vol. XXII, p. 549-573.

Steinberg. — *Sovremennaya medicina*. Kiev, 1862, nos 21-24.

Grassi (B.). — Dei protozoï parassiti e specialmente di qualli che sono nell'uomo. *Gazzetta med. ital.*, 1879.

Flexner. — *Johns Hopkins Hosp. Bulletin*, Nov. 1892.

Kartulis. — *Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionsk.*, 1893, vol. 13.

Prowazek. — Entamoeba buccalis. *Arbeiten a. d. Kais. Gesundh.*, 1904. Band 25.

Leiden und Loewenthal. — *Entamoeba buccalis* Prowazek bei einem Fall von Carcinom des Mundbodens. *Charité-Annalen*, 1905.

Verdun et Bruyand. — *Echo des médecins du Nord*, 1907 et 1909.

Chiavaro. — Ricerche sull'entamoeba buccalis. *Congress of American dentists. of Europe*, Août 1914.

Barret. — *Dental Cosmos*, Août 1914.

Smith and Barret. — *Oral Health*, Avril 1915.

Bass and Johns. — *N. O. Med. and. Surg. Journ.*, Novembre 1914.

Evans and Millaton. — *Journ of Amer. Med. Assoc.*, Janvier 1915.

Brumpt. — *Précis de Parasitologie*, 1913, p. 36.

LÉGENDE DE LA PLANCHE VII

Fig. 1. — Frottis de pus de la pyorrhée alvéolaire traité par May-Grünwald-Giemsa ; à gauche deux amibes.

Fig. 2 et 3. — Amibes montrant distinctement des éléments constitutifs : ectoplasma, endoplasma, noyau, vacuoles digestives.

Fig. 4. — Amibe étranglée en son milieu ; noyau au point de l'étranglement.

Fig. 5 et 6. — Formes petites d'amibes, avec noyau, sans vacuoles.

Fig. 7. — Amas de trois amibes accolées offrant des différences d'affinité élective pour la matière colorante.

Fig. 8, 9, 10, 11. — Amibes colorées à l'hématoxyline au fer.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

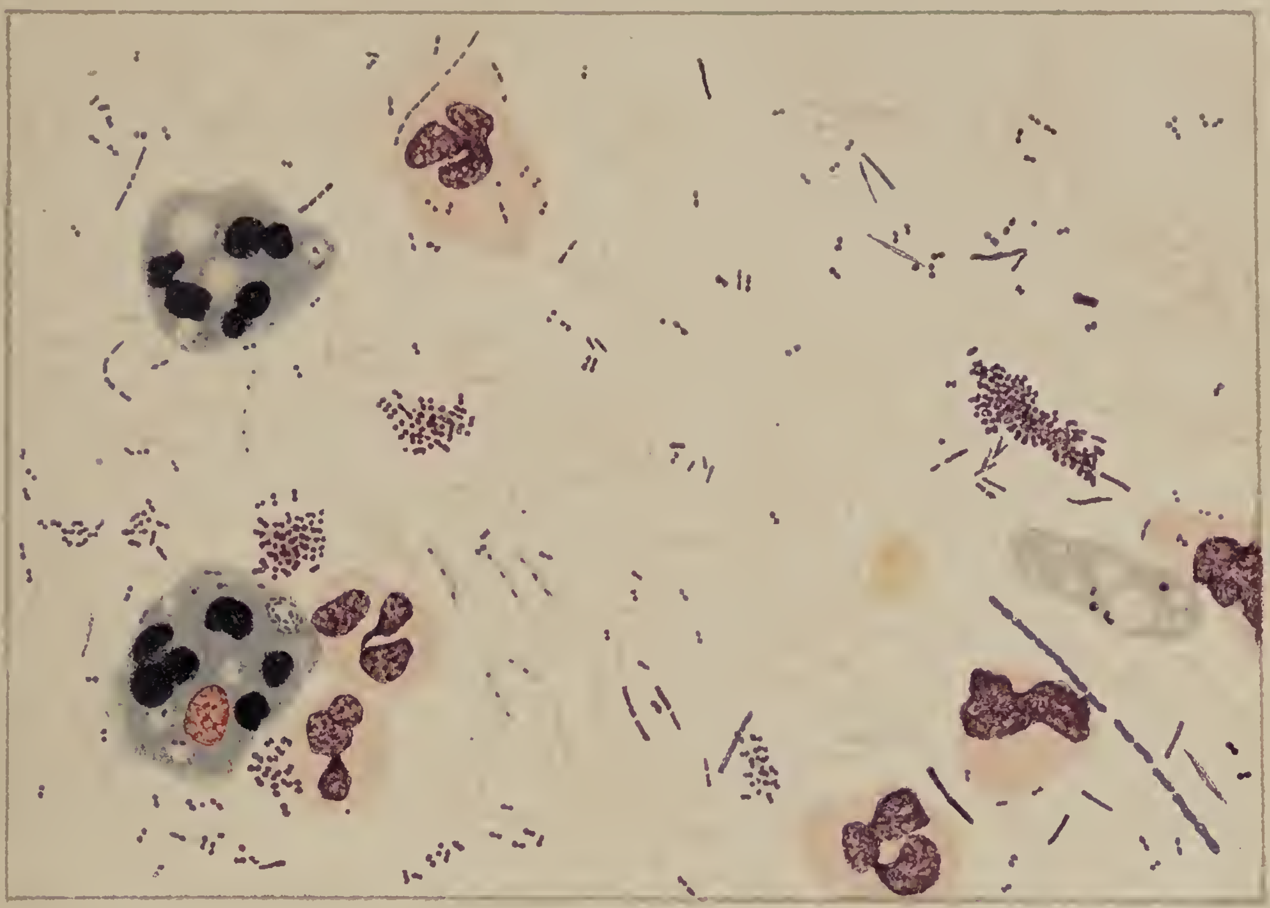


Fig. 1

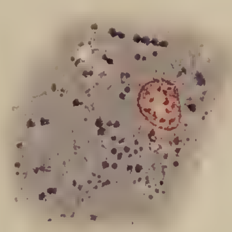


Fig. 2

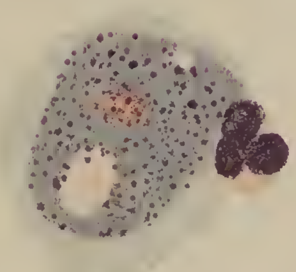


Fig. 3

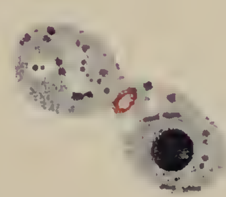


Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6

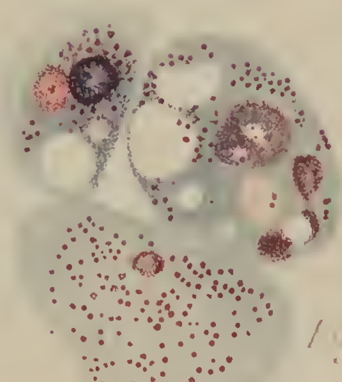


Fig. 7

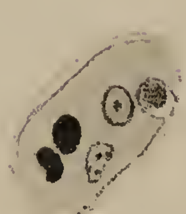


Fig. 8



Fig. 9



Fig. 10



Fig. 11

T. XXX. — 1916. Juillet. — N° 7.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 7

ÉLIE METCHNIKOFF

(1845-1916)

Élie Metchnikoff, qui souffrait depuis plusieurs mois d'une affection cardiaque, a succombé subitement, le 15 juillet, à l'Institut Pasteur.

Cette mort provoquera les regrets de ceux qui s'intéressent à la science, elle excitera la douleur de ceux qui ont connu personnellement Élie Metchnikoff. Quant à nous, ses amis, ses élèves, elle nous accable. Dans le désarroi de nos idées, il nous est impossible de retracer aujourd'hui la vie de ce savant qui a joué un si grand rôle dans l'évolution scientifique contemporaine. Nos pensées ne peuvent se détacher de l'homme excellent dont nous avons tant de fois éprouvé la bonté. Doué d'une exquise sensibilité, Metchnikoff souffrait de ce qui aurait à peine été ressenti par un autre; aussi savait-il éviter jusqu'à la moindre peine à ceux qu'il aimait.

Rares sont les savants tels que Metchnikoff, plus rares encore les cœurs semblables au sien.

La terrible guerre qui bouleverse actuellement le monde a hâté sa fin. C'est avec un sentiment de détresse qu'il vit, en août 1914, ses élèves partir aux armées; il était comme désemparé dans son laboratoire désert, et surtout il ne pouvait supporter la pensée de cette jeunesse et de ces talents prématuré-

ment fauchés sur les champs de bataille. Il souffrait doublement, car il avait deux patries engagées dans la lutte : la Russie et la France. Il a vu venir la mort avec une sérénité conforme à ses doctrines.

Élie Metchnikoff a été un des fondateurs de ces *Annales*. Plus que personne, il a contribué à leur réputation en y publiant ses travaux et ceux de son école. Sa perte sera vivement ressentie par nos lecteurs, ils s'uniront aux membres du Comité de Rédaction pour offrir à sa compagne, qui fut souvent sa collaboratrice, leurs respectueuses condoléances.

20 juillet 1916.

30e ANNÉE JUILLET 1916 N° 7

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

SOME OBSERVATIONS ON THE VIRUS OF VACCINIA

by EDNA S. HARDE

(Bureau of Laboratories, Health Department, New York City.)

The work to be recorded on the virus of vaccinia falls under the following three heads :

1. Methods of obtaining a pure virus;
2. Combination of the virus of vaccinia with living tissue cells *in vitro* (Harrison's method);
3. The result of incubating the virus in various media.

Methods of obtaining a pure virus.

Although in the commercially prepared vaccine the contaminating organisms are comparatively negligible; a completely purified virus is desirable for experimental work.

With Doctor M. Grund, the chloroform method of Green [1] and the ether method of Fornet [2] were tested on a number of viruses obtained from the calf and the rabbit. To examine the purity of the virus, inoculations were made on ordinary media, incubated aerobically and anaerobically, while its activity

was tested by inoculations on the shaven skin of the rabbit according to the method of Calmette and Guerin [3]. We found that the chloroform method, when used for a sufficient length of time to purify, frequently greatly weakened the strength of the virus.

With ether, our results were not as good. We were unable to obtain a pure virus that was not almost completely inactivated.

We have devised the following means for purifying the virus without greatly weakening its activity.

The glycerinated, carbolized calf virus, as prepared by the Board of Health of New York City (1), is put in sterile collodion sacs and dialyzed (method of Poor and Steinhardt) [4]. The dialysis can be carried out in either distilled water or physiological salt solution. If the virus has been subjected for some weeks to the action of the glycerin and carbolic acid at ice-box temperature, most of the contaminating organisms have been killed. Our method for cultural experiments has then been, to put several cubic centimeters of the dialyzed virus on poured agar plates and incubate 1 to 2 days, then from between the bacterial colonies the uncontaminated virus is cut out, and these pieces are used for inoculating other media.

We have found that if fresh pulp is prepared in the usual way, and left in the ice-box a week or two, dialyzed and to this dialyzed virus, glycerin and carbolic acid (2) are again added, placed in the ice-box again for a short time, and re-dialyzed, a pure active virus is usually obtained, but it is considerably diluted (about 1 to 40). It, however, gives a confluent eruption when inoculated on the back of a rabbit. The exact number of days of contact with the disinfectants necessary to purify the virus differs with the nature of the contaminating organisms and must be determined in each instance. From a few preliminary experiments, it seems that the glycerin is not essential. In which case, by only using the carbolic acid, a

(1) The method used is one part of calf pulp emulsified very finely with four parts of a solution of glycerin 50 p. 100; carbolic acid, 1 p. 100, and distilled water, 49 p. 100. The emulsion is then passed through a very fine sieve several times.

(2) It is usually better to add carbolic acid only in the proportion of 1/2 p. 100 in this second sterilization.

pure, less dilute virus could be obtained. This method of repeated partial disinfection might be applied for the purification of other contaminated viruses.

We have also obtained a pure active and multiplying virus from incubated tissue preparations. The plasma in which these preparations are put up is usually so lytic to ordinary contaminating organisms, that it is only when these are present in great numbers that contaminated preparations are the result. The lytic action of the plasma makes this tissue method of value not alone for vaccinia, but also for the purification of other viruses and tissues.

Combination of virus of vaccinia with living tissue cells *in vitro* (Harrison's method).

Several years ago, Doctor Poor, Doctor Lambert and I applied Harrison's method of growing tissue in vitro to the study of the viruses of certain infections in which the specific living agents have not yet been identified or are cultivated with difficulty. The three viruses studied thus far with this method have been those of rabies [5], vaccinia and syphilis [6]. In the study of rabies we found that when fragments of brain tissue were incubated in blood plasma, inclusions were produced in the ganglion cells from normal or rabid brains. These inclusions resembled certain small forms of Negri bodies. There was, however, no evidence of a multiplication of the virus, and in only a single instance was the virus virulent after 8 days incubation at 37°5. Later, Levaditi [7] by employing this method found a virus virulent after 30 days incubation.

After the results with rabies, in conjunction with Doctors Israeli and Lambert [8 and 9], Harrison's method was applied to the virus of vaccinia, again with two objects in view : — the possible cultivation of the virus outside of the body, and the possible production of vaccine bodies in vitro.

Technic : — Small pieces of rabbit or guinea-pig tissue were placed for a few minutes in a weak emulsion of virus. The pieces were then transferred with a small quantity of the virus to cover-glasses to which drops of rabbit or guinea-pig blood plasma were added. The cover-slips were immediately inverted and sealed over hollow ground slides, which were incubated

at 37°C. The virus was taken from the stock of glycerinated, carbolized, calf virus as distributed by the Board of Health of New York City. It was dialyzed through collodion sacs in salt solution, and placed in the ice-box to allow coarse particles to sediment. Only the supernatent fluid was used, and diluted with Ringer's or salt solution, thus a fairly uniform emulsion was obtained.

To demonstrate the activity of the virus, we adopted the method of Calmette and Guerin [3].

They have shown that the virus rubbed on the freshly shaven skin of a rabbit produces a typical vaccinia eruption. Furthermore, they have shown, by increasing dilutions, that the number of vesicles in the eruption indicates fairly accurately the quantity of virus present. This method is largely used in commercial laboratories for standardizing the strength of the virus.

In our experiments the skin of a rabbit was inoculated with a small number of freshly put up, unincubated preparations. Similar inoculations were made later with incubated preparations; the pustules counted in each instance and the two reactions compared.

When cornea was the tissue used, we found a definite increase of the virus after incubation of 7 *to* 18 *days.*

The unincubated preparations produced eruptions varying from 10 *to* 50 *pustules, while the "takes" from the incubated preparations were confluent, estimated at* 200 *to* 250 *pustules.*

As in the confluent eruptions the number of pustules could not be counted, only estimated, to determine more closely the extent of multiplication, higher dilutions of the virus were used in the original preparations.

Here the unincubated preparations gave 6 *to* 10 *flat pustules; the preparations incubated* 11 *days gave* 55 *to* 65 *elevated pustules.*

We find, therefore, that while there is a definite increase in the virus in plasma preparations containing living cornea, this multiplication is not comparable to that observed in cultures of rapidly growing bacteria. Many viruses have been tested in the preparations and almost all have shown multiplication, rarely, however, one is found which does not grow.

From the active preparations, subcultures have been made

and successful skin inoculations have been obtained from the third transfer.

The virus has remained active after 34 days incubation, and this does not represent the limit of activity under such cultural conditions.

The method of tissue cultivation is adaptable for the demonstration of immunity reactions *in vitro*. A rabbit was immunized by a cutaneous inoculation of virus, resulting in an extensive eruption. Two weeks later the plasma and cornea were used in the following experiment. Two series of preparations were made, one with plasma and cornea from the immune rabbit; the other, with plasma and cornea from a normal rabbit (controls). *Inoculation of incubated immune preparations gave a completely negative result, while similar normal or control preparations gave a confluent eruption.*

A second series of experiments was carried out, in which virus tissue preparations were put up consisting of immune plasma and immune cornea, immune plasma and normal cornea, normal plasma and immune cornea, and controls of normal plasma and normal cornea. The result indicated that the greatest lytic action occurred in preparations containing immune plasma and immune corne, next immune plasma and normal cornea. The immune cornea with the normal plasma exerted a slight lytic action. The experiment of testing the immunity of the cornea after inoculation of the cornea with the virus *in vivo*, has not been done as yet.

Whole incubated preparations, containing tissue and plasma were inoculated on the rabbit, also vaccinations were made of the tissue and of the plasma, and it was found that almost all of the virus was located in the tissue, very little growing or surviving in the plasma, indicating the close association of the virus with tissue cells.

In some experiments pieces of paraffin were substituted for the cornea and after incubation, inoculation on a rabbit, showed the virus to have nearly died out. Similar results were obtained when pieces of heart, liver or kidney were used. There was no evidence of growth, but a gradual weakening and death of the virus.

The testis was used, and with this tissue the virus usually grows as well as with the cornea. The virus was inoculated in the testis of a guinea-pig. Five days later the animal was killed and the emulsified testis inoculated on the shaven skin of a rabbit, but with negative result, the virus having been killed *in vivo* (1).

The following experiments proved that living tissue was necessary to the growth of the virus in these preparations. In preparations in which killed cornea was used in place of the living tissue no growth of the virus occurred; the living tissue control preparations showed active multiplication. The corneal tissue was killed by freezing or by a weak hypotonic salt solution, as these two methods cause very slight chemical changes. The results obtained are in harmony with the general conception of the close association of the virus with living body cells.

Microscopic Studies. — Many preparations were studied histologically using several methods of fixation and staining. Examinations were also made on fresh unstained preparations with light and dark field illumination. The results of these studies may be given in a few words. The corneal epithelium shows an active lateral spreading through the clot, forming sheets or groups of cells in the plasma. The cells early show an accumulation of fat in their cytoplasm, but may retain their form for several weeks even when not transferred to fresh plasma. Careful studies have failed to reveal any specific vaccine bodies in the preparations : only the smaller, undifferentiated forms have been seen and these have been found in both the controls without the virus and the virus preparations after incubation. Although we have observed numerous granules in the incubated preparations, these have not been sufficiently definite in character with the methods employed thus far to permit us, as yet, to make any statement in regard to them.

In the preparations containing pieces of testis the growth consisted largely of spindle-shaped connective tissue cells, with an occasional wandering out of round cells. The picture

(1) See addendum.

in the incubated preparations is so complicated, that although vaccine-like bodies were occasionally observed, they could not be differentiated from other non-specific degenerations.

The Result of Incubating the Virus in Various Media. — This work has been carried on with Doctor Grund for the last nine months. It may be stated at once that in no instance have we obtained any vesicles following inoculations on the shaven skin of a rabbit after the third transfer from the original virus, and in the third transfer only in a very few times. The eruption was such as to indicate a gradual weakening and dilution of the original virus rather than an actual growth.

With virus purified by our methods, we have attempted to repeat Fornet's experiments. We have used various viruses and made many attempts but always with negative results.

We find occasionally an uncontaminated virus, when streaked on agar plates and kept anaerobically, will remain active for 8 weeks at 33°C. although gradually dying out during that time. Neither the original plate nor transfers to other media or to fresh plates gave any indication of growth of the virus.

Summary. — A pure active virus of vaccinia can be obtained by repeated partial disinfection with carbolic acid and glycerin.

The virus of vaccinia incubated in tissue cultures composed of plasma and cornea or testis from normal rabbits or guinea-pigs shows a definite increase, but the degree of multiplication is not comparable to that observed in cultures of rapidly growing bacteria. The increase of the virus occurs mainly in the tissue, but very little in the surrounding plasma.

The multiplication of the virus occurs without a corresponding development of vaccine bodies in the preparations.

There is no growth of the virus in preparations containing cornea killed by freezing or by hypotonic salt solution.

There is no evidence of the growth of the virus in preparations in which pieces of paraffin, heart, liver or kidney have been substituted for the cornea or testis.

The virus is soon rendered inactive in preparations containing plasma and cornea obtained from an immune rabbit. The greatest lytic action is exerted by the plasma.

Attempts at confirming Fornet's cultural experiments have been unsuccessful.

Cultural experiments with other media and methods have also given negative results, although the virus has not been killed by incubation for 8 weeks at 33°C.

Addendum. — This paper was sent to the Pasteur Institute in April 1914. In June 1915, Noguchi [10] published successful intra-testicular inoculations of vaccinia in rabbits and bulls. I then again tried inoculations in the testes of guinea pigs, obtaining a positive result in but one out of five experiments. Using rabbits, however, I got results similar to those of Noguchi, thus confirming *in vivo* my cultures *in vitro* [11].

BIBLIOGRAPHY

1. Green. — *Proc. Roy. Soc.*, 1903, 72, p. 1.
2. Fornet. — *Berl. Kl. Wchnshrft*, 1913, 50, p. 1864.
3. Calmette and Guerin. — *Ann. Inst. Past.*, 1905, 19, p. 317.
4. Poor and Steinhardt. — *Jour. Infect. Dis.*, 1913, 12, p. 202.
5. Steinhardt, Poor and Lambert. — *Jour. Infect. Dis.*, 1912, 11, p. 459.
6. Steinhardt. — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1913, 61, p. 1810.
7. Levaditi. — *C. R. Soc. de Biol.*, 1913, 75, p. 505.
8. Steinhardt, Israeli and Lambert. — *Jour. Infect. Dis.*, 1913, 13, p. 294.
9. Steinhardt and Lambert. — *Jour. Infect. Dis.*, 1914, 14, p. 87.
10. Noguchi. — *Jour. Exp. Med.*, 1915, 21, p. 539.
11. Harde. — *C. R. Soc. de Biol.*, 1915, 78, p. 543.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DU GENRE *PROTEUS VULGARIS*

par AIMÉE HOROWITZ,
Docteur en médecine de l'Université de Paris
et de l'Académie de Petrograd.

(Laboratoire municipal de Petrograd.)

Au mois d'août 1913, la Commission sanitaire de la ville de Petrograd, alarmée par une épidémie de gastro-entérite aiguë qu'on supposait être de nature dysentérique, nous chargea d'étudier cette épidémie au point de vue bactériologique. Au point de vue clinique, l'affection, dans la grande majorité des cas, était caractérisée par des selles sanguinolentes très fréquentes, quelquefois des vomissements; le plus souvent, l'évolution en était assez bénigne. Dans d'autres cas, on avait affaire aux entérites aiguës aux allures cholériformes — vomissements, selles riziformes, crampes, cyanose et mort rapide. Vers la fin du mois de septembre l'épidémie prit fin, de sorte que le nombre de cas étudiés fut forcément très restreint (63 en tout); néanmoins, les données acquises nous semblent présenter un certain intérêt pour la bactériologie et l'épidémiologie des entérites infectieuses aiguës.

Disons, tout d'abord, que dans aucun des cas nous n'avons pu démontrer la présence, dans les selles des malades des bacilles dysentériques, soit typiques, soit pseudo-dysentériques. D'autre part, le sérum des malades, examiné à cet égard pendant la maladie ou même quatre à six semaines après, n'agglutinait pas, même au 1/25, le bacille de *Shiga-Kruse*, le bacille de *Flexner* et le b. Y. Force nous est donc de reconnaître que lesdites entérites n'avaient rien de commun avec la dysenterie vraie.

Par contre, dès le début de nos recherches, nous pûmes éta-

blir qu'il s'agissait d'un groupe assez disparate au point de vue bactériologique. Pour nous orienter dans la flore microbienne des déjections, nous pratiquions, d'une part, les ensemencements dans les conditions d'anaérobiose, d'autre part, les ensemencements d'un volume donné de déjections sur les plaques de gélatine, placées à l'air, ce qui nous donnait une idée assez précise du nombre de genres bactériens et de leurs rapports numériques. Pour mieux nous rendre compte de la nature des colonies, nous avons préparé un milieu de gélatine avec 1 p. 100 de lactose, colorée par la teinture de tournesol. Sur ce milieu, non seulement le groupe du *B. coli* et du *B. lactis aerogenes* était suffisamment caractérisé par la couleur rouge des colonies, mais encore divers autres genres formaient des colonies plus ou moins caractéristiques, ce qui constitue un certain avantage par rapport aux milieux électifs à agar, tels que celui de Drigalski, de Endo, etc. Enfin, dans un but d'enrichissement, nous pratiquions des ensemencements dans le bouillon (ou l'eau peptonée) et la bile, avec réensemencements sur les milieux solides au bout de vingt-quatre heures. Pour ne point laisser échapper les genres tels que le *Proteus*, nous faisions également des ensemencements en piqûre sur gélatine, suivant le mode recommandé par Metchnikoff.

Les ensemencements visant les genres sporogènes anaérobies restant stériles, nous concentrâmes notre attention sur les genres aérobies.

Dès lors, nous avons pu constater, dans un grand nombre de cas, le développement très intense sur les plaques de gélatine, à côté du *B. coli*, des colonies protéiformes. Ces colonies se chiffraient par millions pour 1 cent. cube de déjections et, dans un tiers des cas, s'y trouvaient à l'exclusion de tout autre genre, sauf le *B. coli*. Sur 63 cas, nous pûmes constater leur présence dans 24, soit 38 p. 100. Dans 4 cas, ce genre coexistait avec le *B. fæcalis alcaligenes*; dans 2 cas, avec *B. cloacæ*; dans 2 autres, avec le *Streptococcus coli*. Dans le présent article, toutefois, nous laisserons de côté ces divers genres qui semblent, eux aussi, jouer un certain rôle dans la pathogénie des entérites aiguës et ne parlerons que du *B. proteus vulgaris*.

Les 24 cas dont il fut question se répartissent comme suit :

11 cas se rapportaient à l'affection qui simulait en tous points la dysenterie, 4 fois le *Proteus* fut trouvé dans le contenu intestinal des personnes ayant péri d'une affection cholériforme, 1 fois il fut isolé des selles riziformes d'un malade, 4 fois des selles liquides des malades avec une affection indéterminée, 4 fois des déjections des enfants atteints d'entérite suraiguë (1 enfant de vingt-cinq jours, 1 de quarante jours, 1 de trois ans, 1 de sept ans).

Il convient de signaler que, dans une autre série de recherches que nous avons eu l'occasion de pratiquer sur les déjections de 40 enfants de la Maternité en 1910, nous n'avons pu trouver ce genre une seule fois : le plus souvent même les déjections ensemencées dans la gélatine n'accusaient point de genres liquéfiants.

Les 24 races isolées furent soumises à une étude détaillée, tant au point de vue des propriétés morphologiques et biochimiques, que par rapport aux sérums des animaux immunisés.

Au point de vue morphologique, toutes ces races se présentent sous l'aspect assez uniforme de petits bâtonnets, doués d'une grande motilité. Les résultats donnés par la coloration de Gram variaient quelquefois pour une seule et même race et n'étaient pas, en somme, très nets ; la plupart des races pourtant ne prenaient pas le Gram.

Les résultats des ensemencements sur les plaques de gélatine n'étaient pas toujours faciles à interpréter. Sur le milieu à 5 p. 100 de gélatine, la plupart des races formaient des colonies caractéristiques avec des prolongements articulés et tortueux, ayant une tendance à se séparer de la colonie-mère ; d'autres, au contraire, affectaient de préférence la forme simplement arrondie. Les différences étaient encore plus marquées sur le milieu contenant 10 p. 100 de gélatine, où l'on voyait la même race donner tantôt les colonies caractéristiques décrites par Hauser, tantôt les colonies arrondies à structure polycyclique, tantôt les colonies à dessin radiaire, entourées de prolongements blanchâtres sans structure apparente. (L'identité de ces colonies diverses, quant à leur nature, était maintes fois vérifiée par les subcultures sur divers milieux et les nouveaux ensemencements d'une colonie sur une nouvelle plaque de géla-

tine). Ce polymorphisme des colonies nous semble tenir, avant tout, au degré de viscosité du milieu : moins la consistance du milieu est grande, plus les bacilles doués d'une aussi grande motilité émigrent facilement et forment des colonies erratiques. Or, si les plaques de 10 p. 100 gélatine sont abandonnées après l'ensemencement à une température chaude, qui ralentit la solidification, on voit se former les colonies à prolongements; si, au contraire, elles sont soumises à une solidification rapide, dans une glacière, on assiste à la formation des colonies rondes, nullement caractéristiques.

Ensemencées sur *gélatine en piqûre*, toutes les races produisaient une liquéfaction rapide en cupule ou en entonnoir. Il est à noter que certaines races formaient une espèce de *calamus scriptorius*, grâce aux stries latérales perpendiculaires à la tige, correspondant à la piqûre, mais cet aspect n'était nullement constant pour une seule et même race.

Le développement sur *agar* était très caractéristique et identique pour toutes les races. Après l'ensemencement dans l'eau de condensation ou même sur la surface (humide!) du milieu on voyait se former une couche transparente, diffuse, recouvrant toute la surface libre d'agar. Le plus souvent, cette couche offrait un dessin très élégant, rappelant les traces des vagues sur la plage. Les cultures exhalaient une odeur légèrement putride.

Le *lait* était régulièrement coagulé au bout de deux jours (sans formation d'acide) et subissait ensuite une peptonisation prononcée.

Quant à l'action de nos races sur *les sucres et les alcools*, nous avons étudié celle sur le glucose, le lactose, le maltose, le saccharose et la mannite.

Le *glucose* était fermenté par toutes les races avec formation d'acide et de gaz; la quantité de gaz est toujours considérablement moindre que pour le *B. coli*.

La *mannite* subit les mêmes modifications (1 seule race des déjections faisait exception).

Le *lactose* n'est point attaqué par le *Proteus vulgaris* : la production de gaz n'a jamais lieu, et la réaction reste constamment alcaline.

L'action sur le *maltose* n'est point la même pour toutes les

races : une de nos races se refusait à faire fermenter ce sucre, tandis que 23 le décomposaient avec formation d'acide et de gaz. D'autre part, dans 5 cas, en réensemençant les déjections après un à trois mois de séjour dans le laboratoire, nous avons pu en isoler le *B. proteus* qui différait de la race isolée pendant le premier examen par l'incapacité de faire fermenter le maltose. Pour exclure l'hypothèse que dans ces cas il s'agissait d'un type différent, coexistant avec le premier ou bien représentant une souillure ultérieure, il suffit d'ajouter que dans deux de ces cas, nous avons pu constater directement la disparition de la propriété de faire fermenter le maltose chez les races conservées dans le bouillon pendant un mois.

L'action sur le *saccharose* est encore moins constante. De nos 24 races 7 seulement faisaient fermenter ce sucre avec la formation d'acide et de gaz; les 17 ne l'attaquaient point. Dans 2 cas nous avons pu isoler des déjections, 2 et 3 mois après le premier examen, des races qui ne faisaient point fermenter le saccharose, contrairement à celles qui avaient été obtenues au premier examen.

Quant à la dulcite, aucune de 6 races examinées à cet égard ne faisait fermenter cet alcool.

La *propriété indologène* était loin d'être pareille pour toutes les races. 7 races donnaient une réaction positive intense déjà au bout de vingt-quatre heures (notons en passant que 6 dans ce nombre faisaient également fermenter le saccharose), les 17 autres ne donnaient point de réaction d'indol même après six à sept jours.

L'*hydrogène sulfuré* était élaboré par toutes les races avec une énergie qui dépasse de beaucoup celle du groupe *B. coli* à cet égard : l'agar avec 0,1 p. 100 d'acétate de plomb devenait au bout de vingt-quatre heures tout noir, surtout si l'ensemencement était fait non pas en piqûre, mais contre la paroi de l'éprouvette.

Toutes les races transforment énergiquement l'urée en ammoniaque : dès le lendemain on pouvait constater un dégagement intense d'ammoniaque de l'urine ensemencée, tandis que le papier tournesol rouge, approché à l'orifice de l'éprouvette contenant l'urine stérile ou bien ensemencée avec des bactéries du groupe du *B. coli* n'accusait aucun changement. Le *rouge neutre* est énergiquement réduit par toutes les races

du *B. proteus vulgaris* et devient d'un beau jaune; ailleurs nous avons déjà émis l'idée que ce caractère, considéré d'abord par Oldecop, Bulir et d'autres auteurs comme distinctif pour le groupe du *B. coli*, est surtout lié à la production d'ammoniaque et, partant, s'observe pour un grand nombre de genres bactériens (les bacilles du groupe *Subtilis*, les bactéries de putréfaction, etc.).

Toutes les races, cultivées dans du bouillon avec 0,1 p. 100 de nitrate de potassium, réduisaient les nitrates : l'addition d'une solution d'indol et de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré colorait le liquide au bout de vingt-quatre heures en rouge intense, réaction qui révèle la présence des nitrites. Cette réaction pourtant ne s'obtient pas dans un milieu pauvre en nitrates, tel que le bouillon ordinaire (contrairement à ce qui a lieu, par exemple, pour le *B. fæcalis alcaligenes* ou le vibrion cholérique). Cette différence nous semble due à la propriété du *Proteus vulgaris* de réduire les nitrites jusqu'à l'ammoniaque. En effet, en cultivant ce genre dans du bouillon additionné de 0,001 p. 100 de nitrite de potassium, nous pouvions constater la disparition des nitrites dès le lendemain. Ce n'est que quand la quantité des nitrites (préexistant dans le milieu ou formés aux dépens des nitrates) est relativement grande qu'on peut constater leur présence dans les cultures du *Proteus*, qui n'arrive pas dans ce cas à opérer leur transformation totale en ammoniaque.

Les milieux à esculine permettent de constater que le *Proteus vulgaris* ne décompose point ce glucoside. La formation du précipité noir (dû sans doute à l'action de l'hydrogène sulfuré formé sur les sels de fer, contenus dans le milieu) est totalement différente de la coloration noire intense, uniforme, due à la décomposition de l'esculine et à l'action de l'esculetine formée sur le fer. Il est à noter que le genre voisin du *B. proteus vulgaris*, *B. cloacæ Jordani* donne constamment cette dernière réaction. Enfin, quant à la propriété de se multiplier à 46° et faire fermenter les sucres à cette température, toutes les races ont donné les résultats positifs. Il s'ensuit de ces faits que le genre *Proteus* appartient au nombre relativement restreint des genres bactériens qui pourraient induire en erreur dans l'examen de l'eau par la méthode de Bulir visant le

B. coli, puisque tous les caractères de la réaction (fermentation de la mannite à 46° avec formation de gaz et d'acide, réduction intense du rouge neutre) se trouvent être les mêmes pour les deux genres. Il va de soi que l'examen plus approfondi (ensemencements sur les milieux solides, caractères des cultures) ne laisse subsister aucune trace de doute.

En étudiant nos races au point de vue sérologique nous pûmes voir, dès le début, qu'à cet égard elles n'étaient point identiques entre elles, mais devaient être rangées dans plusieurs groupes.

Nos résultats toutefois ont été beaucoup plus encourageants que ceux de Sidney Wolff, Cantu, Tsiklinsky et autres auteurs qui ne pouvaient obtenir que l'agglutination avec un sérum donné d'une seule race, à savoir celle qui a été utilisée pour l'immunisation.

Le sérum que nous appellerons A, obtenu à l'aide d'une race 10 isolée des déjections sanguinolentes d'un malade, agglutinait à la limite du titre 1/5000 7 autres races de diverses provenances : 32, isolée des déjections sanguinolentes d'un malade indologène et faisant fermenter le saccharose; 93, des selles d'un enfant de sept ans, ayant péri d'une entérite aiguë (et la race 97 de la même origine); 145, des selles en purée de pois; 213 et 214, obtenues des déjections des malades dont l'affection ressemblait à la fièvre typhoïde; 168, provenant d'un cas dysentériforme; 294, isolée des selles d'un enfant malade de vingt-cinq jours. Notons que dans les cas où plusieurs races de la même origine étaient soumises à l'étude (dans certains cas nous en avons examiné jusqu'à 12), elles se trouvaient être du même type sérologique.

Il importe de signaler qu'au cours même de nos recherches sur les entérites nous avons pu, à trois reprises, isoler de l'eau de la Néva (ensemençement de 400 cent. cubes dans l'eau peptonée à 37°, réensemencement d'une anse de liquide au bout de vingt-quatre heures sur l'agar) trois races du *Proteus vulgaris* qui étaient agglutinées par notre sérum et jusqu'à la limite du titre; elles différaient pourtant de ce groupe par l'absence de la propriété de faire fermenter la mannite et le maltose.

Le sérum B, préparé à l'aide d'une race 125 (prise entre les

16 que le sérum A n'agglutinait point) isolée du contenu intestinal d'une personne morte d'une affection cholériforme, agglutinait à son tour au titre à 1/5000, outre la race homologue (et la race 131, provenant du même malade) 5 autres races : 31, isolée des selles riziformes ; 57, des selles d'un enfant de trois ans atteint de gastro-entérite suraiguë ; 82, des selles dysentériformes ; 171, des selles moulées d'un malade guéri d'une attaque dysentériforme ; 178, des selles sanguinolentes d'un malade. Ici encore il importe de signaler qu'au cours même de nos recherches nous avons pu isoler d'une gelée de charcuterie, ayant provoqué quelques cas de maladie chez les consommateurs, une race de *Proteus vulgaris*, 159, qui était agglutinée à 1/5000 par le sérum B.

Une race, appartenant au même groupe, 3.198, fut encore isolée de l'eau de la Néva ; cette race différait des précédentes par la fonction indologène et la propriété de faire fermenter le saccharose. Le premier de ces caractères, nous le retrouvons encore chez la race 82 du même groupe ; le second, chez la race anindologène 57.

Les races du groupe A n'étaient point influencées par le sérum B, même à la dilution 1/100 ; quant aux caractères morphologiques et biochimiques ils étaient, sauf quelques détails, identiques pour la grande majorité des races appartenant aux deux groupes.

Le sérum C fut préparé au moyen d'une des 10 races qui ne rentraient point dans les deux groupes précédents. Cette race 138 avait été isolée des selles liquides d'une malade et différait des types précédents par une intense fonction indologène et la propriété de faire fermenter le saccharose. Ce sérum C agglutinait au 1/5000, outre la race homologue, 4 autres races : 3, 29, 123, 183, obtenues des selles sanguinolentes des malades avec le tableau clinique de la dysenterie, et 1 race, 203, isolée des selles d'un nourrisson de six semaines, présentant les symptômes d'une entérite aiguë. Deux d'entre ces races étaient en tous points identiques à la race 138 ; les deux autres, en fait de caractères biochimiques, rentraient plutôt dans les groupes précédents (point de production d'indol, pas de fermentation du saccharose).

Signalons encore que nous avons eu l'occasion d'isoler d'un

produit de charcuterie (langue fumée) ayant provoqué les cas d'empoisonnement alimentaire une race du *B. proteus vulgaris*, identique en tous points (agglutinabilité, caractères biochimiques) à la race 138. Malheureusement, dans ce cas, il nous a été impossible de nous procurer les déjections des malades pour en pratiquer l'examen bactériologique.

Sur les races du groupe A et B, le sérum C restait sans action aucune. Restaient encore 5 races qui ne rentraient dans aucun de ces 3 groupes sérologiques. Une d'entre elles, 175, était à son tour employée pour la préparation du sérum que nous désignerons par la lettre D. Cette race était isolée des selles riziformes d'un malade qui souffrait d'une affection chlériforme; quant aux caractères biochimiques elle était en tous points identique aux races des groupes A et B. Ce sérum n'agglutinait point les 4 races inagglutinables par les sérums A, B et C, mais, par contre, fait inattendu, il agglutina à la limite du titre (1/2.000) 2 races du groupe B, 171 et 178 (plus 131 de la même origine que 125) et 1 race 203 du groupe C. Ce fait nous parut digne d'attention. Pour le tirer au clair, nous avons préparé encore un sérum E au moyen de la race 171, qui semblait constituer un trait d'union entre le groupe B et D. Le sérum E, en effet, semblait contenir des agglutinines multipartielles, puisqu'il agglutinait presque à la limite du titre, soit 1/1.000 (titre 1/2.000) les races du groupe B, 125 (et 131), 171, 178 et la race 203 du groupe C, ainsi que l'unique race du groupe D, 175.

Pour nous assurer que la race 171 ne constituait point un mélange fortuit des types (voire même des genres), nous décomposions à plusieurs reprises une colonie en colonies-filles, en faisant subir encore à celles-ci le même traitement, mais toutes les colonies se trouvaient être agglutinables également par les deux sérums B et D. Enfin, bien que l'hypothèse du mélange dans chaque colonie de 2 et même 3 types différents, soit quelque peu artificielle, pour lever tous les doutes, nous avons étudié des individus isolés, par le procédé de Burri, *Einzellenkolonie*, le résultat ne changea point. Force nous fut ainsi d'admettre que la race 171 est bel et bien une race de transition entre les groupes B et D, autrement dit, contient des récepteurs partiels communs aux deux groupes.

Il en est de même pour la race 203 qui constitue un trait d'union entre les groupes C et D. Enfin la race 177, qui était agglutinée par le sérum D seulement au 1/200 et en même temps se laissait agglutiner par le sérum A au 1/500 (deux mois plus tard, même au 1/2.000) semble se rapprocher des groupes A et D.

Ces faits nous semblent de nature à appuyer les conclusions que nous avons déjà énoncées au sujet des vibrions cholériques :

1° Le défaut d'agglutinabilité d'une race par un sérum spécifique d'un genre bactérien n'exclut pas pour cette race la possibilité d'appartenir à ce genre ;

2° Tous les sérums, préparés au moyen de diverses races d'un seul et même genre, n'influencent pas indifféremment toutes les races de ce genre ;

3° Les races formant un groupe homogène par le fait de leur agglutinabilité spécifique ne sont pas toujours en tous points identiques entre elles.

Nous résumons les données ci-dessus dans le tableau ci-contre :

Il va de soi que la parenté de ces divers groupes, sérologiquement différents, constitue un fait important non seulement pour le diagnostic bactériologique, mais aussi bien pour la solution des problèmes d'épidémiologie. Citons un exemple : les races 29 et 171 ont été trouvées chez deux personnes qui habitaient ensemble et sont tombées malades l'une après l'autre. Il y avait donc lieu de supposer la contagion, mais la différence sérologique de deux races rendait l'interprétation difficile. Le trait d'union établi entre les deux groupes par la race 203 permet de supposer la mutation de la race 29. Ajoutons que cette race, conservée dans le laboratoire, a perdu, après deux mois, son agglutinabilité par le sérum C et que, d'autre part, trois mois après le premier examen, nous n'avons pu isoler des mêmes déjections que les races du *Proteus vulgaris* du type D.

Pour terminer, signalons les faits plaidant en faveur du rôle étiologique du *Proteus vulgaris* dans les entérites aiguës qui ont été objet de nos recherches.

Les preuves directes de ce rôle, il est vrai, nous manquent,

FONCTION INDOLOGÈNE —; FERMENTATION DU SACCHAROSE —

GROUPE A (*race* 10)

Nos DES RACES	PROVENANCE	FERM. DU MALTOSE	FERM. DU SACCHAROSE	INDOL
10	Déjections des malades.	—	—	—
32		+	+	+
93		+	—	—
97		+	—	—
145		+	—	—
168		+	—	—
213		+	—	—
214		+	—	—
294	Eau de Néva.	+	—	—
2932		—	—	—
3125		—	—	—
3150		—	—	—

GROUPE B (*race* 125)

Nos DES RACES	PROVENANCE	MALTOSE	SACCHAROSE	INDOL
31	Déjections des malades.	+	—	—
57		+	+	—
82		+	—	+
125		+	—	—
131		+	-	—
171		+	—	—
178		+	—	—
159	Gelée de charcuterie.	+	—	—
3198	Eau de Néva.	+	+	—

GROUPE D (*race* 175)

Nos DES RACES	PROVENANCE	MALTOSE	SACCHAROSE	INDOL
131	Déjections des malades.	+	—	—
171		+	—	—
175		+	—	—
178		+	—	—
203		+	—	—

GROUPE E (*race* 171)

Nos DES RACES	PROVENANCE	MALTOSE	SACCHAROSE	INDOL
125	Déjections des malades.	+	—	—
131		+	—	—
171		+	—	—
175		+	—	—
178		+	—	—
203		+	—	—

INDOL +; FERM. DU SACC. +

GROUPE C (*race* 138)

Nos DES RACES	PROVENANCE	MALTOSE	SACCHAROSE	INDOL
29	Déjections des malades.	+	+	+
123		+	—	—
138		+	+	+
183		+	+	+
203		+	—	—
300	Langue de bœuf fumée.	+	+	+

(*) Les races dont les numéros sont imprimés en gros caractères sont des races de transition entre les différents groupes.

puisque, dans aucun des cas où nous avons pu nous procurer le sérum des malades ou des convalescents, nous n'avons pu constater l'agglutination de la race homologue même à 1/25 par ledit sérum, bien que la fonction agglutinogène de ces races fût attestée par l'effet rapide de l'immunisation des lapins. Mais il est permis de croire que la localisation du *Proteus* dans l'intestin et la brièveté de la maladie constituaient dans ces cas des conditions défavorables pour l'élaboration des anticorps antiinfectieux.

On sait, d'autre part, que certains auteurs ont pu constater chez les malades, dont les excrétions contenaient le *B. proteus vulgaris*, un pouvoir agglutinogène du sang assez élevé (Klieneberger, Grossberger, Pfaundler, Lannelongue et Achard, Landsteiner, Levy et Bruns, etc.). Dans certains cas d' « empoisonnement alimentaire » on a pu trouver ce genre aussi bien dans la viande incriminée que dans le tractus gastro-intestinal des malades (Glucksmann, Wesenberg). Les recherches de Metchnikoff et de ses élèves l'ont conduit à attribuer à ce genre les entérites cholériformes des petits enfants. L'énumération d'autres affections où il y avait lieu de considérer le *Proteus vulgaris* comme agent pathogène constituerait une longue liste.

Dans nos cas, la fréquence du *B. proteus vulgaris* dans les selles des malades, ainsi que leur présence en très grand nombre, concurremment avec l'absence des autres microbes capables d'expliquer l'origine de la maladie, plaident en faveur de leur rôle étiologique. Enfin, dans les expériences sur les animaux, les races étudiées révélaient une assez grande virulence; 1 anse de culture sur agar, introduite dans la cavité péritonéale, tuait les cobayes de 150 à 200 grammes en vingt-quatre heures (l'introduction des cultures *per os* restait sans effet).

Les faits exposés nous semblent autoriser à admettre que le *B. proteus vulgaris*, pénétrant dans le tractus gastro-intestinal de l'homme, soit avec les produits alimentaires, soit avec l'eau souillée, est susceptible de provoquer des gastro-entérites aiguës pouvant simuler le paratyphus, la dysenterie et même le choléra.

CAMPAGNE
D'EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE BIOLOGIQUE
CONTRE LES *SCHISTOCERCA PEREGRINA*
DANS LA RÉGION
DE BOUGZOUL-MSILINE, COMMUNE MIXTE DE BOGHARI
(DÉPARTEMENT D'ALGER)

MAI - JUIN 1915

par MUSSO.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

L'expérimentation de la méthode de d'Hérelle pour la destruction des Sauterelles par le *Coccobacillus acridiorum* a été effectuée en 1915, pour le département d'Alger, dans la Commune mixte de Boghari, au lieu de ponte de Bled-Msiline (carte, p. 321).

Dans cette région, les pontes ont eu lieu au début du mois d'avril. Une température assez fraîche, accompagnée de pluies fréquentes, s'est maintenue pendant la majeure partie de l'incubation. Beaucoup de grappes ovigères ont été parasitées et j'ai constaté surtout la présence de l'*Idia lunata*, Fabricus ou *fasciata*, Meigen, qui a réduit dans une très notable proportion le nombre des éclosions. Ces éclosions ont été assez tardives. Les premières ont été accusées le 20 mai, mais la vérification des mues a indiqué plus tard que les toutes premières éclosions devaient remonter au 15 mai.

Le lieu de ponte de Bled-Msiline est constitué par plusieurs taches très irrégulières comme étendue et comme densité.

Le 23 mai et le 24 mai, les éclosions étant très avancées, j'ai pu constater que les taches de pontes étaient localisées sur le pourtour d'un polygone $a\,b\,c\,c'\,d'\,d\,e$ compris entre Bordj-Msiline et la Daya.

Les taches comprises entre a et b et entre d et e se sont réunies en une bande qui a pris la direction ouest et a été détruite par le feu auprès des puits de Bordj-Msiline qu'elles menaçaient.

Les taches comprises entre b et c, c et c' ainsi que celles situées à l'est de la Daya se sont réunies pour former une bande qui a pris la direction nord-nord-ouest et a été également détruite par le feu près des caravansérails de Boughzoul.

La tache *d*, la plus étendue et la plus dense de ce lieu de ponte, a donné naissance à une très forte bande qui a pris la direction sud-ouest et que les circonstances m'ont fait choisir pour mon expérience.

Enfin une autre tache moins étendue et de densité très faible *d'*, donna naissance à une autre bande un peu plus tardive et qui suivit à peu près le même itinéraire que la bande D, en arrière et un peu à gauche de celle-ci.

Entre la tache D et Bordj-Msiline existent trois autres taches de ponte de 8 à 16 hectares de superficie chacune qui ont été labourées à la charrue arabe. Le nombre des éclosions a été considérablement diminué dans ces taches ainsi traitées et presque réduit à néant.

Itinéraire de la bande de criquets attaquée (bande D).

Issue, entre le 15 et le 25 mai, de la plus grosse tache du lieu de ponte de Bled-Msiline, elle a pris, dès les premiers jours de sa marche, une direction sud-ouest qui n'a presque pas varié pendant les 50 jours environ de son évolution.

Pour éviter la contamination des puits ou rdirs servant à l'alimentation des indigènes, et la destruction de cultures, cette bande, de densité trop élevée pour une expérience, fut partiellement détruite dans les tout premiers jours de son parcours par le brûlage de certains secteurs.

Au moment où j'ai été en mesure de lui appliquer le traitement biologique, elle constituait une troupe de 2 kilomètres de front sur 1 kilomètre de profondeur environ comprenant approximativement 60.000.000 d'individus.

A partir de ce moment, la bande D passe du douar Bougzoul dans le douar Chabounia et ne subit plus aucun traitement mécanique.

Malgré cela la bande principale D se divise en un certain nombre de bandes secondaires à la suite d'obstacles naturels qu'elle rencontre très obliquement à sa direction générale. Elle traverse d'abord la route et passe peu à peu en totalité de la gauche sur la droite. La plus grande partie traverse également le Chéliff. La partie la plus à droite franchit en outre une série de rigoles parallèles au cours du Chéliff qui se formèrent à la suite de fortes pluies d'orages et ne persistèrent que deux ou trois semaines.

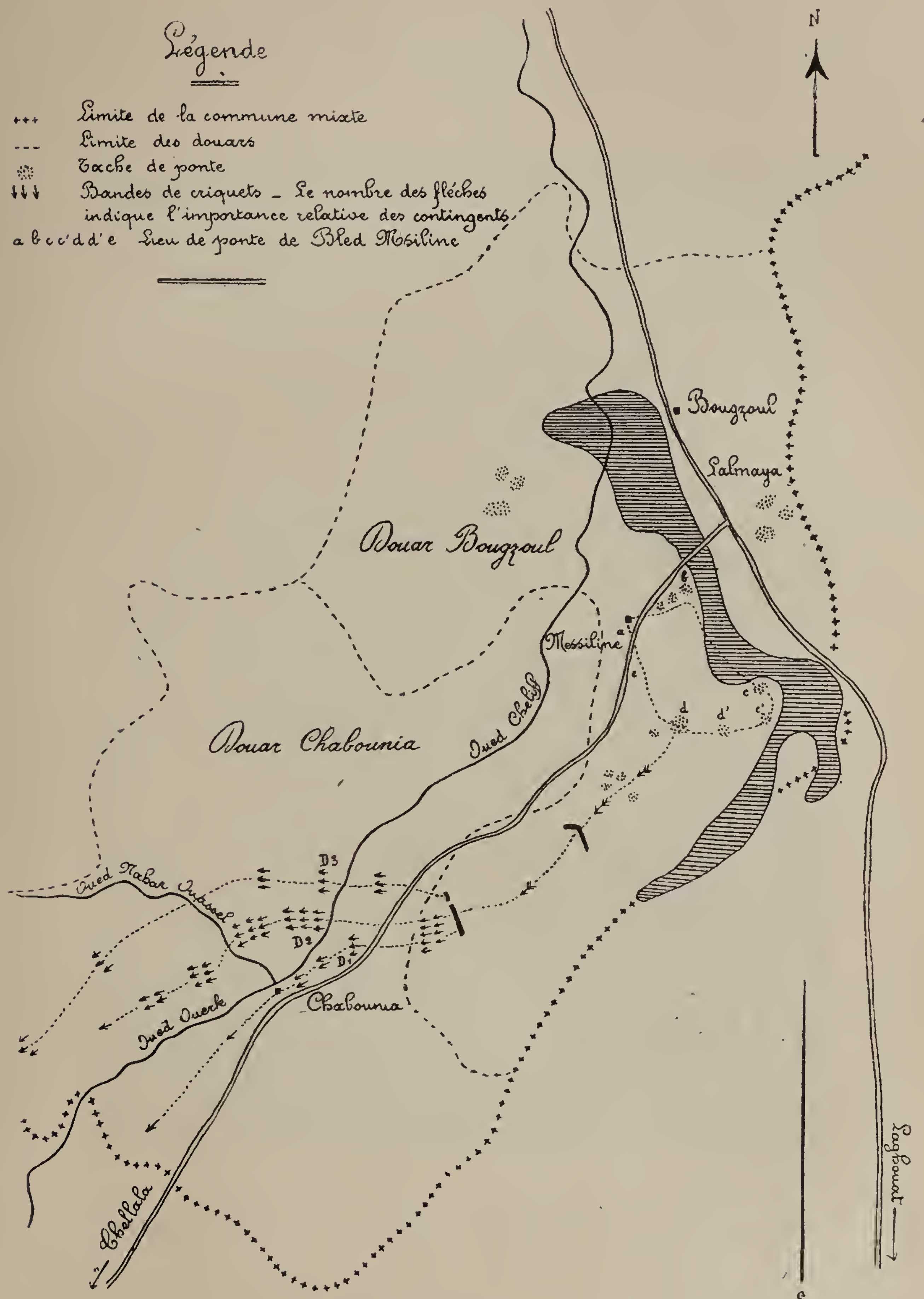
En résumé, vers le 13 juin, la bande principale D se divisait en 3 bandes accessoires :

1° *Bande D1* formée de 1/5 environ de D constituée par l'aile gauche et qui continua sa route vers le Sud-Ouest entre le chemin vicinal de Chellala et la rive droite du Chéliff puis de l'oued Ouerk.

2° *Bande D2* formée par les 3/5 environ de D constituée par le centre et qui continua sa route vers le Sud-Ouest sur un front assez étendu de 1 à 2 kilomètres environ sur la rive gauche du Chéliff puis de l'oued Ouerk.

3° Enfin la *bande D3* formée du dernier cinquième environ de D et repré-

sentant l'aile droite. Cette partie s'est écartée de la direction générale sud-ouest pour franchir à peu près perpendiculairement les rigoles parallèles au



Chéliff qui lui faisaient obstacle vers l'Ouest puis revint par un itinéraire courbe vers le point où D2 prit son vol.

Influence des mues sur la marche des criquets. — Je n'ai pas remarqué de temps d'arrêt sensible pendant les premières

mues (du premier au cinquième stade inclus). Au contraire, pendant les vingt jours suivants, la distance parcourue fut beaucoup plus faible : 10 kilomètres environ avec des temps de ralentissement très marqués aux moments de la dernière mue (sixième stade) et de la métamorphose.



Fig. 1. — Rassemblement des criquets jeunes, le soir, au pied des touffes de Harmel (Douar Bougzoul).

Plantes mangées par les criquets. — La flore de la steppe offre, aux criquets, une pâture variée.

Les plantes qui ont été préférées par eux sont :

Dans la première partie du parcours (douar Bougzoul) :

1° Le *Peganum harmala* L., ou Harmel des Arabes (Ruta-

cées). Cette plante contient plusieurs alcaloïdes toxiques et est connue comme un poison par les populations indigènes dont les troupeaux s'abstiennent de brouter l'Harmel. Malgré cela, les criquets dévorent cette plante de préférence à toutes les autres et n'en sont nullement incommodés.

2° La *Salsola vermiculata* L. (Salsolacées).

3° L'*Artemisia herba-alba* ou Chih des Arabes (Composées).

4° Le Gtaf des Arabes : *Atriplex halimus* (Chénopodiacées).

5° L'*Anabasis articulata* (Salsolacées.)

6° Le *Noæa spinosissima* (Salsolacées.)

7° Enfin un *Tamarix*, poussant au bord des rivières.

Dans cette région les plantes préférées par les Acridiens après l'Harmel ont été le Tamarix puis le Gtaf.

Aspersions de cultures virulentes. — C'est au cours des divers itinéraires indiqués ci-dessus que les trois bandes reçurent des pulvérisations de cultures exaltées du *Coccobacillus acridiorum* et toutes trois d'une façon différente, comme je l'expose plus loin.

D1 reçut plusieurs traitements successifs qui furent suspendus avant la fin de la complète évolution.

D2 reçut plusieurs traitements espacés jusqu'à la fin de son évolution.

D3 reçut un seul traitement à l'époque moyenne de son évolution. La vitesse de cette bande fut irrégulière. Dans les vingt premiers jours les criquets parcoururent 22 kilomètres environ, c est-à-dire presque toute la distance qui sépare Msiline de Chabounia.

Exaltation du virus au laboratoire. — Pendant que des jalonnements quotidiens me permettaient de suivre ainsi la marche des criquets, je procédais dans le laboratoire à l'exaltation du virus, soit par des passages directs de criquet à criquet, soit par des passages alternés sur criquet et sur gélose.

Au cours de ces passages, j'ai constaté une exaltation de virulence assez rapide abaissant la durée de la maladie de treize heures à moins de quatre heures.

J'ai constaté qu'il est préférable de ne pas chercher à augmenter trop considérablement la virulence du coccobacille et de diluer le produit d'inoculation de plus en plus, à mesure que la virulence augmente, pour éviter les phénomènes d'intoxication.

Mode de contamination des bandes. — La contamination initiale des bandes de *Schistocerca peregrina* par le *Coccobacillus acridiorum* a été obtenue au moyen de pulvérisations de bouillon ensemencé depuis trente-six ou quarante-huit heures au maximum.

Les pulvérisations ont toujours été effectuées le soir au moment du coucher du soleil et lorsque les criquets étaient bien groupés sur les buissons.

Quelle que fût la plante ayant servi aux pulvérisations, la partie imprégnée de culture était toujours préférée au reste. Il est probable que l'odeur et la saveur animales du bouillon excitent beaucoup l'appétit du criquet.

TRAITEMENT DES BANDES ET RÉSULTATS OBTENUS.

Bande D3. — Ce n'est que cinq jours après une pulvérisation de 16 litres de bouillon que je pus constater une mortalité évidente, 500 ou 1.000 mètres environ en arrière du front de D3. Sur une étendue approximative de 20 hectares, on pouvait constater la présence de un à plusieurs cadavres (4 au maximum) au pied de beaucoup de touffes de Salsolacées.

Les deux jours suivants le nombre de cadavres trouvés fut moindre et devint ensuite insignifiant.

Cette bande D3 ne reçut plus ensuite aucune pulvérisation et l'épizootie qu'elle avait manifestée d'une façon très nette pendant ces premiers jours disparut rapidement sans que le nombre des individus qui la constituait fût sensiblement diminué.

Bande D1. — Cette bande occupant elle aussi 30 à 40 hectares en pleine marche fut infectée par des pulvérisations, répétées tous les deux jours, d'environ 2 litres par hectare de criquets aux 4ᵉ et 5ᵉ stades.

Huit jours après la première pulvérisation, on pouvait constater la présence de cadavres sur le parcours de la bande. Leur nombre d'abord assez restreint augmenta beaucoup les jours suivants. Ces cadavres se trouvaient toujours assez loin, à 500 mètres environ en arrière du front.

Tous ces cadavres ou les criquets trouvés malades sur le

terrain et qui mouraient au bout de deux ou trois jours au laboratoire présentaient les symptômes de paralysie de l'infection coccobacillaire, mais ils ne présentaient pas tous la goutte fécale plus ou moins colorée. A la période la plus active de l'épizootie j'ai trouvé jusqu'à 84 p. 100 parmi les morts ou les malades ne présentant que les phénomènes paralytiques sans



Fig. 2. — Traversée de Chabounia par la bande de criquets D1.

gouttes fécales ; ce qui permet de croire que sur le terrain, comme dans les expériences de laboratoire, à partir d'une certaine virulence et d'une certaine quantité de virus absorbée, la maladie et la mort sont dues plutôt à l'intoxication qu'à l'infection.

La mortalité s'est maintenue, non seulement pendant la durée des pulvérisations, mais encore une dizaine de jours après leur cessation. Au bout de ce temps le nombre de cadavres ou de malades a décru rapidement.

Cette bande a été notablement diminuée par l'épizootie coccobacillaire mais n'a pas été complètement détruite. Une semaine après la disparition de la mortalité évidente, le nombre des survivants représentait le tiers ou la moitié environ de l'effectif primitif.

Une bande D' qui n'avait jamais subi le traitement biolo-



Fig. 3. — Début du vol des sauterelles (Douar Chabounia).

gique, a présenté une mortalité sensible après avoir été en contact avec la bande D1 traitée.

Il y a donc eu un phénomène de contamination bien net d'une bande saine par une bande malade. Dans ce cas également, la mortalité a rapidement décru.

Bande D2. — Elle représente la partie moyenne comprenant les 3/5 de la bande primitive D. Elle a été infectée par le Coccobacille de d'Hérelle au moyen de pulvérisations de 135 litres

de culture pour une superficie de 120 hectares environ couverte par les criquets en marche.

Les pulvérisations ont été ensuite supprimées afin de se rapprocher des conditions normales d'application pratique de la méthode et parce que les criquets commençaient à opérer leur métamorphose.

La mortalité a été assez faible dans le trajet parcouru entre la première et la deuxième pulvérisation.

Mais un fait intéressant a pu être observé au passage de l'oued Nahar Ouassel par cette bande.

La même bande eut à traverser successivement deux cours d'eau : le Chéliff avant le traitement biologique, puis l'oued Nahar Ouassel (moins important) après le traitement biologique.

Alors que le premier passage s'était effectué avec la plus grande facilité et sans perte aucune pour la bande, une partie très importante des criquets se noya lors du second passage de la rivière.

Cette mortalité ne peut être attribuée qu'au traitement biologique, soit que ce traitement ait diminué la vigueur des criquets, soit que l'immersion assez prolongée des criquets dans l'eau froide ait favorisé le développement de la maladie.

Ce qui restait de la bande D2, après son passage de l'oued Nahar Ouassel, fut rapidement décimé au moyen des pulvérisations répétées que je pratiquais sur elle. La mortalité a été considérable pendant la durée des pulvérisations et quatre ou cinq jours après. Finalement, la bande D2 était réduite à 15 p. 100 environ de son contingent initial et ne couvrait plus guère qu'un demi-hectare.

Après la cessation des pulvérisations, le nombre de criquets morts trouvés matin et soir sur le terrain était de plus en plus faible, surtout au moment où la majeure partie des Acridiens passa à l'état de Sauterelle parfaite.

Bande témoin. — Enfin une autre bande de criquets provenant de la commune mixte de Chellala et se dirigeant vers l'ouest-sud-ouest a pu servir de témoin aux quatre bandes D1, D2, D3 et D' en expérimentation.

N'ayant reçu aucun traitement biologique et n'étant jamais entrée en contact avec une bande contaminée, elle n'a présenté aucune mortalité.

En résumé : Les conditions dans lesquelles une bande importante de criquets a évolué dans les régions de Msiline et de Chabounia ont été particulièrement favorables à l'observation de l'infection du *Schistocerca peregrina* par le *Coccobacillus acridiorum*.

La bande a pu être suivie pas à pas et jalonnée quotiennement pendant les cinquante jours environ de son évolution.

Grâce à l'absence presque complète de cultures dans le steppe, la destruction mécanique de cette bande a pu être réduite au strict minimum dans la première partie de son évolution et totalement suspendue dès que le traitement biologique a pu être appliqué.

Elle a pu enfin parcourir son itinéraire complet sans se rencontrer ni se mélanger avec aucune autre bande d'Acridiens.

Ensemble des résultats.

Les résultats obtenus cette année, dans le département d'Alger, au cours des essais d'infection coccobacillaire du criquet pèlerin, nous indiquent :

I. — Que l'infection peut être facilement communiquée, après exaltation du virus, aux criquets de l'espèce *Schistocerca peregrina*.

II. — Que cette infection, transmissible d'individu à individu et même de bande à bande, peut détruire un nombre considérable de criquets.

III. — Que ces résultats très intéressants au point de vue théorique n'ont plus qu'une importance relative au point de vue pratique :

1° Parce que la mortalité due à l'épizootie n'a pas été immédiate et a exigé au contraire un délai de deux à cinq jours pour se déclarer.

2° Parce que la destruction des criquets par cette méthode n'a pas été complète. L'importance de la mortalité a été sensiblement proportionnelle à l'intensité du traitement dans les bandes D1, D2 et D3. Dans les trois expériences, l'épizootie tend vers une extinction plus ou moins rapide selon que le traitement est suspendu plus ou moins vite.

Cette extinction doit être attribuée plutôt à un défaut de

contamination qu'à une immunité, puisque l'inoculation directe du Coccobacille tue 20 sur 24, c'est-à-dire sensiblement 80 p. 100 des survivants. Elle peut s'expliquer :

a) par les mœurs mêmes du criquet pèlerin, car si, d'une part, son acridiophagie est favorable à la propagation de l'épizootie, d'autre part, son activité ambulatoire y est contraire. En effet un criquet porteur de germes ralentit sa marche dès le début de la maladie et se trouve rapidement distancé par le front qui constitue la partie de beaucoup la plus importante de la bande. Au moment où il est assez malade pour devenir la proie de ses congénères, il n'offre plus guère de chances de contamination que pour la minorité de la bande restant derrière lui.

b) par les nombreuses causes de disparition des porteurs de germes. Les criquets malades se laissent plus facilement détruire par les moyens mécaniques ou noyer dans les Oueds que les criquets sains. De plus ils sont une proie plus facile pour leurs ennemis naturels : Oiseaux, Scolopendres, etc.

c) Par l'exaltation progressive du virus sur le terrain grâce à laquelle une proportion notable de criquets meurent d'intoxication avant que la maladie puisse se développer chez eux et devenir contagieuse.

Conclusions.

La méthode biologique doit trouver une place dans l'organisation générale de la lutte contre les criquets :

1° A titre de procédé principal employé comme première défense de la colonie dans les parties désertiques ou semi-désertiques et dans toutes les régions où la main-d'œuvre indigène est rare et où il n'y a pas de récolte immédiatement menacée.

2° Au contraire, à titre de procédé accessoire devant laisser subsister tous les autres moyens de défense dans les régions où la main-d'œuvre est suffisante, où le matériel est facilement transportable ainsi que dans les localités où des récoltes sont directement menacées.

En terminant cette note je suis heureux de remercier M. l'administrateur De Chelle (de Boghari), pour toutes les facilités qu'il n'a pas cessé de me donner pendant toute la durée de l'expérience.

SUR LES TÉTANOS POST-SÉRIQUES ET EN PARTICULIER SUR LE TÉTANOS SANS TRISMUS

par le Dr MONTAIS (des Lilas),
Aide-major de 1re classe. Hôpital temporaire 18, Poitiers.

La sérothérapie préventive appliquée aujourd'hui à la presque totalité des blessés a supprimé à peu près le tétanos commun, si grave et si fréquent au début de la guerre ; pourtant on observe encore quelques cas de tétanos survenant malgré le sérum.

M. Borrel, qui a bien voulu s'intéresser à notre travail, les a appelés tétanos post-sériques et a montré qu'ils doivent être bien distingués du tétanos des sujets non injectés (1).

Comprenant la majorité des cas de tétanos observés dans les circonstances actuelles, les tétanos post-sériques constituent une famille à part avec sa pathogénie spéciale, son tableau symptomatique et surtout son pronostic tout particulier.

Loin de témoigner de l'insuffisance du sérum préventif, ils nous donnent au contraire les preuves les plus variées de son efficacité : *c'est la présence de l'antitoxine et son action qui commandent toute la maladie*, et c'est d'après les effets plus ou moins marqués de la protection sérique que nous classerons ces tétanos. Leur étude montre qu'ils s'écartent d'ordinaire du type classique d'autant plus qu'apparaissant plus tôt après le sérum, ils en portent l'empreinte plus marquée. Une première classe comprendra les cas les plus profondément modifiés, ce sont naturellement les cas les plus précoces ; deux groupes dans cette classe : *les tétanos strictement localisés à la région blessée et sans aucune trace de trismus pendant toute leur évolution*, et *les tétanos débutant par la région blessée mais avec trismus secondaire et tardif.*

Les premiers seuls méritent le nom de *tétanos localisé* sous

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 6 mai 1916.

lequel nous les désignerons : ils apparaissent presque exclusivement au cours du premier mois, parfois leur incubation se réduit même à quelques jours. Les cas du second groupe sont du *tétanos à début localisé* : plus fréquents et plus tardifs, ils se montrent surtout au cours des deux premiers mois.

La seconde classe comprend tous les *tétanos à trismus d'emblée*, moins déformés par l'injection préventive parce qu'ils apparaissent plus longtemps après elle : on n'en trouve guère avant le deuxième mois; deux groupes également dans cette classe, le premier qui embrasse la plupart des cas post-sériques est composé de tétanos rappelant la forme classique mais plus ou moins altérée et atténuée; enfin le dernier groupe est formé des cas où tout effet d'atténuation est épuisé et où reparaît la forme ordinaire avec toute sa régularité et aussi sa gravité.

Il est bien évident que la période d'apparition optima que nous avons indiquée pour chaque forme n'est qu'approximative, trop de facteurs à date indéterminée y participant et avant tout le début de la production de toxine qui peut varier de plusieurs mois comme l'indiquent les cas de tétanos par réinfection étudiés par MM. Bérard et Lumière (1), lesquels peuvent survenir chez d'anciens blessés à la suite d'une intervention chirurgicale secondaire.

L'antitoxine injectée s'use assez vite spontanément et beaucoup plus vite quand elle doit résister à une production de toxine précoce et abondante. D'où l'apparition exceptionnelle, dès le premier mois, de tétanos où l'antitoxine se montre complètement épuisée, dès le 17e jour même chez un sujet de M. Mauclaire (2) qui avait pourtant reçu deux doses de sérum. MM. Bérard et Lumière ont cité des cas d'épuisement encore plus rapide.

Aussi exceptionnel mais en sens inverse, est le cas de MM. Rauzier et Estor, rapporté plus loin, de tétanos survenu plus de trois mois après l'unique injection de sérum et présentant des signes encore très nets de la protection sérique ; la plaie, il est vrai, avait été légère et peu infectée, elle était cicatrisée depuis longtemps.

(1) *Bull. Acad. Méd.*, 31 août 1915, 16 mai et 30 mai 1916.
(2) *Bull. et Mém. de la Soc. de Chirurgie*, 1903.

Enfin, la date de l'injection préventive et la dose employée sont souvent impossibles à préciser après coup : parfois le blessé a dû attendre plusieurs jours son injection et la dose en a pu être réduite à 5 et même à 2 cent. cubes, sans qu'il en soit fait mention dans sa fiche.

Le tétanos sans trismus est une nouveauté pathologique (le cas le plus ancien, celui de Curtillet et Lombard, date de trois ans), c'est une création de la sérothérapie préventive qui en est, comme nous le verrons, le facteur essentiel et constant. Nous avons pu en rassembler vingt et une observations que nous citerons sommairement, rangées à peu près suivant la longueur de l'incubation (dans tous ces cas la dose préventive avait été de 10 cent. cubes).

Observation Curtillet et Lombard (*Soc. Chir.*, 22 *janvier* 1913). — Un enfant de neuf ans pesant 23 kilogrammes se fit une fracture compliquée très infectée de l'avant-bras gauche, fragments osseux souillés de terre; il reçoit immédiatement 10 cent. cubes de sérum. Début au 6e jour par quelques secousses musculaires, tétanos très net le 7e jour, caractérisé par contracture permanente de tout le membre supérieur gauche étendue finalement au sterno-mastoïdien et au grand pectoral droits. Les secousses spasmodiques surajoutées persistent pendant une semaine, la contracture s'éteint au bout de six semaines. A partir du 8e jour, sérothérapie antitétanique, sur l'avis de M. Ed. Sergent, directeur de l'Institut Pasteur d'Alger.

Obs. II *de notre mémoire* (*Ann. Inst. Pasteur*, *août* 1915), *qui en contient quatre cas*, *analysé in Presse Médicale*, 9 *mars* 1916). — Le soldat Chard... présente à la face postérieure des cuisses 4 sétons profonds par balle très infectés, dégâts musculaires sérieux par attrition particulièrement à la cuisse gauche. Sérum au bout de trois jours; deux jours après le pied gauche est fixé en équinisme.

Progressivement, contracture intense avec secousses, étendue en quelques jours à tout le membre inférieur gauche et ensuite, quoique moins intense et moins durable, à la paroi abdominale et au membre inférieur droit. Enfin, symptômes inquiétants, polypnée, tachycardie, sueurs qui persistent trois semaines. Température élevée au début seulement, peut-être liée à l'infection des plaies. La contracture fixe dura plus de deux mois et demi. Finalement pied bot équin gauche définitif par rétraction musculaire.

Pozzi (*Acad. Méd.*, 9 *novembre* 1915). — Un soldat atteint de plaies osseuses très infectées du tarse gauche est injecté au bout de trois jours. Deux jours après, début par contracture avec spasmes extrêmement douloureux qui s'étendent en une semaine à tout le membre inférieur gauche, ensuite au membre inférieur droit quoique plus légèrement. Le 11e jour, seconde injection de 10 cent. cubes, le 15e jour, amputation sus-malléolaire; malgré tout, le tétanos suit son cours, il n'était pas encore complètement éteint au bout de deux mois, la contracture en flexion du genou persistait encore.

Laval (*Acad. Méd., novembre* 1915) : Obs. I. — Soldat atteint d'éclats d'obus multiples notamment à la jambe gauche, injecté 48 heures après; au 8e jour, début d'un tétanos limité au membre blessé, membre en bois du pied au bassin, guéri en trois semaines.

Laval : Obs. II. — Blessures face externe de la cuisse et région rétro-trochantérienne droites, injecté 14 heures après, début au 9e jour annoncé depuis plus de trois jours par vives douleurs dans le membre blessé, tétanos caractérisé par crampes très douloureuses étendues du pied au bassin, guéri en 15 jours.

Barnsby et Mercier : Obs. VI *de la communication à l'Acad. Méd.,* 23 *mars* 1915. — Large plaie du bras droit par balle, 10 cent. cubes de sérum intraveineux au bout de 4 jours. Après 11 jours d'incubation, tétanos caractérisé par contracture et secousses localisées au membre blessé; très amélioré au bout d'une semaine par chloral intraveineux avec sérothérapie.

Monod (*Acad. Méd., novembre* 1915). — Plaie très étendue du bras droit par balle. Injecté 50 heures après. Amputation le 9e jour pour gangrène. Le tétanos débute au 14e jour par des élancements et mouvements spasmodiques incessants du moignon, extrêmement douloureux; guéri en un mois.

Obs. I *de notre mémoire déjà cité.* — Très nombreuses blessures avec corps étrangers du membre inférieur gauche. Injecté au 4e jour. Après incubation de 13 jours, tétanos atténué, caractérisé par crampes prolongées étendues à tout le membre blessé, survenant à l'occasion de tous les mouvements ou contacts locaux; dans l'intervalle persiste de la raideur incomplète et de l'hypertonicité musculaire qui mirent cinq mois à disparaître.

Obs. III, *même mémoire.* — Plusieurs plaies par éclats d'obus au tiers inférieur de la jambe gauche, très infectées. Injecté au bout de 40 heures. Au 24e jour, début d'un tétanos intense strictement localisé au membre blessé qui devient d'une dureté ligneuse du bassin aux orteils. La contracture persista deux mois laissant à sa suite un certain degré d'équinisme du pied et de flexion du genou par rétraction musculaire.

Obs. IV. — Éclat d'obus entré dans le ventre à 4 doigts à droite de l'ombilic et fixé dans la paroi lombaire droite, au niveau de la troisième apophyse transverse. Injecté au bout de 3 jours. Début le 10e jour d'un tétanos de la paroi lombo-abdominale droite avec participation atténuée du côté opposé et de la racine de la cuisse droite. Mélange d'opisthotonos et pleurosthotonos limités à la région lombaire ; les secousses spasmodiques rythmées de la paroi abdominale contracturée figurent un pseudo-hoquet interminable, elles disparaissent au bout d'une dizaine de jours, la contracture persista trois semaines.

M. Routier *a communiqué à l'Acad. Méd., novembre* 1915, entre autres faits, trois cas de tétanos localisé à un membre inférieur blessé (Obs. III, IV et VI). La date de l'injection préventive n'est pas précisée, l'incubation fut de trois à quatre semaines. Le blessé de l'observation III mourut en une semaine. Les deux autres guérirent l'un en trois semaines, le dernier en dix jours.

M. René Le Fort (de Lille) a rapporté trois observations assez semblables (*Acad. Méd.* 17 *août* 1915) d'accidents pseudo-tétaniques chez des blessés

atteints d'éclats d'obus siégeant au contact des troncs nerveux du membre inférieur. Tous ces blessés avaient été injectés, le premier au bout de trois jours, les deux autres sans date. Les accidents débutèrent respectivement 8 jours, 3 semaines et 12 jours après la blessure, accidents caractérisés par contracture avec secousses convulsives du membre blessé, symptômes qui, chez le troisième patient, s'étendirent au membre opposé sans dépasser la ceinture. Dans tous les cas ces symptômes s'améliorèrent, les secousses d'abord, quelques jours après l'ablation des corps étrangers irritant les nerfs; la contracture persista plus longtemps, jusqu'à six semaines chez le troisième patient. L'auteur avait pensé au tétanos, mais il abandonna ce diagnostic en constatant que les spasmes ne dépassèrent pas la ceinture, que le trismus et la raideur de la nuque restèrent absents et que les blessés guérirent bientôt à la suite de l'ablation des corps étrangers.

Pourtant le temps de l'incubation, l'allure et la durée respective des symptômes ainsi que la notion d'une injection préventive permettent d'affirmer qu'il s'agit bien là de tétanos localisé.

Vincent et Wilhelm (*Presse Méd.*, 17 *janvier* 1916). — Fracture compliquée de cuisse par éclat d'obus. Injecté sans date. Début au bout de 10 jours par crampes de la cuisse fracturée, puis contracture du membre blessé propagée au membre opposé, rétention d'urine, polypnée, mort en 24 heures dans le coma.

Mériel (*Soc. Chir.*, 2 *février* 1916). — Tétanos strictement localisé au membre inférieur gauche blessé. Injecté sans date. Après 10 jours d'incubation, début par douleurs, puis secousses spasmodiques. Contracture établie au bout d'une semaine, ayant persisté deux mois.

Couteaud (Obs. II *de la communication à la Soc. Chir.*, 16 *février* 1916). — Blessures multiples intéressant entre autres les membres inférieurs. 10 cent. cubes de sérum le 1er jour, renouvelés le 7e jour. Au bout d'un mois, début progressif par douleurs, puis spasmes localisés au membre inférieur droit, la contracture est établie au bout de trois jours; les secousses spasmodiques persistent une dizaine de jours, la contracture s'éteint en trois semaines.

Borrel (*Soc. Biologie*, 6 *mai* 1916). — Pendant la fête du 14 juillet 1914, un passant reçut accidentellement une décharge de petits plombs dans la région du genou. Le lendemain, 10 cent. cubes de sérum. Les plaies peu profondes furent rapidement cicatrisées, un grand nombre de grains de plomb restant inclus. Un mois après, apparut la contracture avec secousses paroxystiques, contracture ligneuse en flexion étendue des orteils au bassin, absence de trismus. Injection de 20 cent. cubes de sérum antitétanique; les contractures restent localisées à la cuisse et à la jambe, elles persistent pendant près de deux mois.

Rauzier et Estor (*Th. de Raminez Martinez, Montpellier, juillet* 1915). — Plaie légère du pied droit par éclat d'obus, corps étranger enlevé de suite et injection immédiate. Trois mois après, douleurs et spasmes de la région blessée, la cicatrice est excisée. Tétanos très atténué caractérisé par une rigidité complète du membre blessé. Guéri en un mois.

Au cours de cette guerre, les chirurgiens anglais ont observé quelques faits identiques qu'ils citent sans trop les expliquer,

dans le but de provoquer de nouvelles recherches. Le lieutenant-colonel Rudolf (1) apporte trois cas de spasmes tétaniformes, avec état hypertonique musculaire permanent, strictement localisés au membre blessé, survenus après une courte incubation et guéris en quelques semaines. M. Atkinson Stoney en a cité un autre cas (2).

Tous ces blessés avaient été injectés préventivement, toutefois l'injection n'est pas mentionnée dans l'observation II de M. Rudolf.

Les trois premières observations sont de vrais schémas tout tracés pour une étude pathogénique : voilà des cas typiques de tétanos précoce, intense et tenace, localisé au membre blessé, avec extension secondaire possible au membre opposé, mais avec absence des symptômes bulbo-protubérantiels les plus essentiels : trismus, raideur de la nuque, spasmes de la déglutition et de la respiration.

Ce tétanos respecte les centres supérieurs, lieu d'élection constant jusqu'ici; il reste localisé aux centres médullaires de la région blessée ou, s'il les dépasse, s'étend tout au plus au reste de l'étage médullaire.

On sait qu'une quantité donnée de sérum ne peut immuniser que contre une certaine dose correspondante de toxine : en cas de plaie très anfractueuse ou très infectée, la dose préventive normale de sérum pourra se trouver insuffisante pour protéger les points médullaires les plus menacés, les centres de la région blessée dont les nerfs, faisant l'office de mèches, peuvent puiser la toxine directement à son foyer. Bien plus, si l'injection de sérum est faite tardivement (trois ou quatre jours après la blessure, comme l'indiquent plusieurs observations), son rôle préventif ne peut plus s'exercer sur les centres où la toxine est déjà fixée, toujours les centres de la région blessée qui en sont les premiers et les mieux pourvus.

Suivant la dose qui a imprégné ces centres médullaires directs et surtout si l'intervention protectrice du sérum a été assez tardive, la toxine aura pu encore impressionner plus ou

(1) *The Lancet*, 13 novembre 1915.
(2) *The Lancet*, 27 novembre 1915.

moins le reste de l'étage médullaire et les centres symétriques, étape régulière dans la marche extensive du tétanos expérimental ordinaire, où nous voyons se contracturer l'étage correspondant du rachis et la patte opposée après celle qui a reçu la toxine.

Dans nos cas précoces, le sérum protège toujours efficacement l'axe bulbo-spinal : même agissant dans les conditions les plus défavorables, s'il n'a pu empêcher toute irruption d'emblée du poison, il en prévient au moins toute atteinte ultérieure, il fixe sur place le futur tétanos sur les points qui ont fixé la toxine et où nous le verrons strictement évoluer après son incubation.

Cette tétanisation précise d'un point ou d'un étage médullaire, a été réalisée chez l'animal par Roux et Vaillard (1) dès les premières expériences sur le pouvoir préventif du sérum : Des cobayes, injectés à la cuisse chacun avec une dose de culture filtrée tuant le témoin en 48 heures, reçoivent aussitôt après une dose différente mais très forte de sérum très actif; ils eurent tous simultanément *un tétanos qui resta localisé à la patte inoculée et qui persista longtemps*. Même résultat, tétanos localisé curable obtenu avec la même dose de toxine sûrement mortelle, chez les cobayes traités jusqu'à 6 heures après *forte contracture de la patte inoculée*, *la partie inférieure du rachis et l'autre patte deviennent plus ou moins raides*, *mais nettement atteintes... Chez les animaux traités au bout de* 12 *heures*, *qui ont survécu*, *les deux pattes postérieures sont étendues en contracture*, *ligneuses*, *le rachis en S*, *très raide* (2). Ce tétanos se montrera d'autant plus précoce et plus intense que l'injection préventive aura été plus tardive et la dose préventive devra être alors proportionnée au retard et encore administrée par les voies d'absorption les plus rapides, injection intrapéritonéale de préférence chez l'animal.

Un tétanos localisé précoce chez un blessé injecté avec la dose ordinaire de sérum nécessite donc une production de toxine tout particulièrement rapide et intense au niveau de la plaie et encore faut-il le plus souvent que l'injection préventive ait été bien tardive.

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, t. VII, p. 86, 1893.
(2) Binot. *Thèse de Doctorat*, Paris, 1899.

Même quand la protection sérique s'est montrée d'abord entièrement efficace, empêchant tout tétanos pendant un certain temps, la production persistante de toxine par une plaie restée infectée, usant très vite la provision d'antitoxine, l'effet préventif pourra secondairement devenir insuffisant et cela, en premier lieu, pour le centre direct de la région blessée ; d'où d'autres cas de tétanos strictement localisé, pouvant apparaître à partir de la troisième semaine, mais quelquefois beaucoup plus tard : un mois, dans l'observation de M. Borrel; chez le blessé de MM. Rauzier et Estor, la production sérique a persisté complète exceptionnellement pendant trois mois ; la blessure, il est vrai, avait été très légère et le corps étranger enlevé immédiatement.

Dans l'observation de Couteaud, chez un blessé atteint de plaies infectées multiples, ayant reçu deux injections de 2 cent. cubes de sérum, l'une le premier jour, l'autre le septième, l'effet préventif s'est montré incomplet au bout d'un mois.

L'apparition du tétanos indique que la provision d'antitoxine fournie au blessé est devenue insuffisante ; si, faute d'une nouvelle injection de sérum, l'antitoxine continue à se raréfier encore, la toxine pourra réussir à toucher de nouveaux centres. Lesquels? On pouvait s'attendre, d'après le mode du début, à une invasion régulièrement ascendante du tétanos le long de l'axe médullaire, or c'est le trismus qui apparaît sans transition annonçant le début de la réaction des centres supérieurs, dès que le tétanos cesse d'être confiné à l'étage médullaire de la région blessée.

Nous trouvons un bel exemple de cette propagation discontinue dans l'observation de MM. Courtois-Suffit et Giroux (1).

Un soldat, atteint de plusieurs éclats de grenade à la partie supérieure de la cuisse gauche, reçoit le lendemain 10 cent. cubes de sérum. Suppuration abondante des plaies entretenue par les corps étrangers. Le tétanos débute 10 jours après la blessure par secousses de la cuisse accompagnées bientôt de contracture permanente étendue à tout le membre inférieur gauche, le tout de plus en plus intense. La deuxième injection de sérum, celle-ci de 30 cent. cubes, n'eut lieu que 26 jours après la blessure, 16 jours après le début du tétanos; le jour suivant, ébauche de trismus qui s'affirme le lende-

(1) *Bull. Acad. Méd.*, janvier 1916.

main : les corps étrangers sont alors extraits, traitement par chloral avec sérothérapie quotidienne poursuivie pendant deux semaines. Le trismus fut passager, mais le tétanos localisé fut intense et ne commença à s'améliorer qu'après deux semaines de traitement; les secousses mirent encore une dizaine de jours à disparaître; la raideur du membre persistait encore plus de deux mois après la blessure.

M. Broca (1), MM. Phocas et Rabaud (2) ont rapporté d'autres exemples de trismus survenant après une longue période de tétanos localisé à la région blessée.

On a rarement l'occasion d'observer des cas aussi nets où le tétanos donne l'impression d'évoluer par poussées successives séparées par un intervalle aussi long : le plus souvent, le trismus suit de près la tétanisation du point blessé. MM. Schwartz et Moulonguet (3) en ont rapporté une observation précoce.

Blessé atteint de plaie lombaire gauche pénétrante par éclat d'obus, laparotomie 11 heures après permettant de suturer deux perforations intestinales juxtaposées; suture de la paroi au fil d'argent; 10 cent. cubes sérum 24 heures après la blessure. Suites opératoires excellentes, rapide rétablissement des fonctions intestinales. Le tétanos débute, 6 jours après la blessure, par des crampes très douloureuses de la cuisse gauche, produisant une violente extension de la jambe sur la cuisse, ces contractions sont de plus en plus douloureuses, fréquentes et étendues; le 7e jour, la tétanisation du membre inférieur se précise; chloral et sérothérapie continuées largement par les voies sous-cutanée, intraveineuse et intrarachidienne. Le 8e jour, le membre inférieur gauche est transformé en une barre rigide, les secousses cloniques s'étendent à la racine de la cuisse droite et à la paroi abdominale. 9e jour, début du trismus, pleurosthotonos, les contractions ont fait couper les fils de suture et l'intestin n'est plus recouvert que par le péritoine épaissi. Le 10e jour, le tétanos s'est encore accentué: à partir de là, il va en décroissant rapidement, rigidité moins complète et secousses beaucoup plus rares; mais le 13e jour, l'intestin se répand dans le pansement à travers le péritoine rompu; on refait une suture de la paroi abdominale sous anesthésie à l'éther; mort 40 heures après la rupture.

M. Verhaeghe (4) a observé un cas très analogue. Plaie pénétrante par éclat d'obus près de l'épine iliaque A. S. gauche. Laparotomie quelques heures après, sutures intestinales, 10 cent. cubes sérum le premier jour. Suites opératoires normales. Au bout de 6 jours douleurs dans le membre inférieur gauche, la température remonte; le 7e jour, mouvements spasmodiques, contractures. Sérothérapie consécutive. Néanmoins le tétanos se compléta rapidement et le blessé mourut 8 jours après son entrée à l'ambulance. L'autopsie montra que les sutures intestinales avaient tenu.

(1) *Journal des Praticiens*, 10 avril 1915.
(2) *Bull. Acad. Méd.*, 28 mars 1916.
(3) *Paris Médical*, 19 juin 1915.
(4) *Presse Médicale*, 30 déc. 1915.

Dans ces deux observations fort semblables de tétanos précoce consécutif à une plaie pénétrante latérale de l'abdomen, le trajet du projectile passant au voisinage du rachis explique la brièveté de l'incubation, rarement aussi courte dans le tétanos à début localisé; le début en apparence anormal des symptômes tétaniques par le membre inférieur du même côté s'explique également par un trajet intéressant la zone de distribution du plexus lombaire. De même, dans l'observation IV de notre mémoire, un éclat d'obus entré dans le ventre au-dessus de l'épine iliaque A. S. droite et arrêté dans la paroi lombaire droite au niveau des apophyses transverses, détermina un tétanos de la région lombo-abdominale droite avec participation de la cuisse.

Tandis que le tétanos strictement localisé à la région blessée est inconnu en dehors de toute sérothérapie préventive, la forme de tétanos qui débute par la région blessée et entraîne constamment un trismus secondaire est aussi ancienne que le tétanos lui-même; cette forme comprend tous les cas décrits et classés avant la sérothérapie comme tétanos locaux ou partiels, appellations impropres du reste puisqu'il y a toujours dans ces cas une ébauche de généralisation; des faits tout récents en ont été rapportés par Courtellemont (1), par Boinet et Monges (2).

Qu'il survienne chez un sujet neuf ou chez un blessé qui a reçu du sérum préventif, le tétanos à début localisé présente le même tableau d'ensemble : *c'est toujours la réaction du centre direct qui domine la symptomatologie*; *la tétanisation locale apparaît la première*, *elle reste toujours la plus intense et la plus tenace*, *tandis que la réaction des centres supérieurs est tardive*, *atténuée et fugace*. Mais chez les sujets injectés la pathogénie est toute spéciale, le tétanos est le résultat d'une protection sérique incomplète; la réaction des centres supérieurs pourra de ce fait se montrer elle-même particulièrement incomplète, irrégulière et incoordonnée : au lieu d'obéir à la toxine avec la régularité habituelle dans le tétanos clas-

(1) *Paris Médical*, 8 mai 1915.
(2) *Province Médicale*, 10 oct. 1910.

sique, chacun des centres est devenu libre de réagir isolément d'une manière variable et même inconstante. Ainsi, dans l'observation de M. Carnot (1), on voit le symptôme le plus constant, comme le trismus, manquer absolument dans un tétanos tardif ayant débuté par le bras gauche blessé et ayant présenté ultérieurement des signes multiples quoique atténués de généralisation : quelques crampes dans le bras opposé et dans les deux jambes, légère raideur de la nuque, strabisme et même dysphagie.

Dans deux cas de tétanos intense des membres inférieurs où aucune contracture ne dépassa la ceinture et qui se terminèrent par la guérison (Obs. II et III de notre mémoire), nous-même avons constaté, ensemble ou séparément, de la tachycardie et de la polypnée, symptômes isolés d'excitation de centres plus élevés, de mauvais pronostic dans le tétanos classique où ils accompagnent les symptômes ultimes. Cette polypnée et cette tachycardie n'étaient explicables ni par la température, ni par l'état de tétanisation des membres, ni par aucun état infectieux, toute leur allure rappelait celle des réactions tétaniques.

Cette inconstance et cette variabilité des symptômes peuvent être encore plus marquées quand le tétanos est plus tardif.

D'ordinaire, lorsqu'il apparaît très longtemps après la blessure et l'injection préventive, au cours des 2e, 3e et même 4e mois, il s'annonce par le trismus comme chez les blessés non injectés : *plus de tétanisation locale initiale qui témoigne de l'action de l'antitoxine limitant d'abord au centre direct la pénétration du poison; le début par trismus montre que cette pénétration est redevenue libre, puisque chaque centre peut de nouveau réagir à l'intoxication commune suivant son affinité naturelle, les centres supérieurs les premiers : l'effet protecteur du sérum est épuisé.*

Il pourrait cependant persister parfois, comme l'ont supposé MM. Bérard et Lumière, « un résidu d'immunisation qui masque certains symptômes en leur enlevant leur netteté habituelle, sans cependant empêcher la fixation de la toxine sur

(1) *Paris Médical*, 11 déc. 1915.

les centres nerveux ». D'où la marche du tétanos tardif, insidieuse, lente, souvent sans crises spasmodiques, avec seulement des contractures permanentes et progressives, allure insidieuse qui n'exclut pas d'ailleurs un pronostic souvent fatal.

Les tétanos tardifs sont causés souvent par une production tardive de toxine après une longue période de vie latente des germes : dans ces conditions la production de toxine peut être très inégale suivant les cas, d'où l'intensité particulièrement variable de ces tétanos tardifs, dont nous avons déjà vu l'irrégularité d'allure explicable par la persistance de traces d'antitoxine.

Quand toute trace a disparu nous retrouvons le tétanos tardif des sujets non injectés, d'allure plus régulière mais d'intensité très inégale suivant les cas. Dans une observation de M. Carnot(1), chez un blessé énucléé de l'œil survint, 40 jours après la blessure et l'injection préventive, un tétanos céphalique avec paralysie faciale, trismus et spasmes respiratoires qui amenèrent la mort par asphyxie au 3e jour. Dans l'observation VII de M. Routier, le tétanos assez intense se montra six semaines après l'injection préventive, il guérit en trois semaines. L'observation II de M. Mériel (*loc. cit.*) est un exemple assez fréquent de tétanos post-sérique très atténué : réduit à du trismus, de la raideur de la nuque et un peu de dysphagie; il survint deux mois après l'injection de sérum, la blessure étant déjà guérie, et s'effaça après 8 jours de traitement.

Le diagnostic ne présente aucune difficulté quand on sait que le tétanos peut exister sans trismus et qu'il peut même être exclusivement localisé à la région blessée : la raideur intense, fixe et tenace d'une région récemment blessée, surtout chez un sujet injecté préventivement, est suffisamment caractéristique du tétanos, sans qu'il soit nécessaire d'attendre pour l'affirmer les progrès de la contracture et l'apparition des spasmes paroxystiques, faciles du reste à provoquer.

Parfois les secousses spasmodiques précèdent la contracture de quelques heures ou de quelques jours; elles se montrèrent

(1) *Loc. cit.*, note de la page 544.

la veille dans l'observation I de M. Routier où le diagnostic fut confirmé par M. Babinski et le lendemain par le trismus. La contracture peut même rester plus ou moins effacée et les secousses paraissent constituer toute la maladie (obs. Monod, obs. II, Laval).

Tous ces spasmes traumatiques localisés, que Colles, puis Follin avaient individualisés, ne sont que du tétanos à début local, comme le montre leur évolution ultérieure.

M. Bazy (1) a cependant rapporté un cas de spasmes traumatiques d'apparences analogues, guéri immédiatement par le chloral et par conséquent non tétanique.

Certaines méningites peuvent imiter les formes généralisées du tétanos; la ponction lombaire lèverait les doutes.

Les tétanos post-sériques nous ont fait assister au conflit entre la toxine et l'antitoxine : c'est bien la présence et l'action de l'antitoxine qui commandent toute la maladie, la même loi s'applique naturellement au pronostic; c'est ce que confirment les faits et ce que la pathogénie faisait prévoir.

Ordinairement la résistance de l'antitoxine suffit à empêcher tout tétanos; la toxine n'arrive que rarement à atteindre la moelle, soit à la longue après deux ou trois semaines au moins quand l'antitoxine est déjà plus ou moins usée par le temps; soit plus tôt, mais cela exceptionnellement, et avec le concours de circonstances favorisantes : plaies multiples ou très étendues, très anfractueuses ou très infectées permettant une sécrétion particulièrement précoce et abondante de la toxine; siège de la plaie à la région cervicale ou au voisinage du rachis permettant à la toxine un accès plus rapide à l'axe bulbo-médullaire; ou bien injection préventive faite tardivement alors que la sécrétion de la toxine a été précoce.

Même dans ces conditions particulièrement favorables à l'action de la toxine, l'antitoxine injectée récemment ne cède qu'au point où la toxine est la plus abondante, au niveau de la région blessée : c'est là que le tétanos débute et qu'il se montre le plus intense et le plus persistant, tandis que la toxine respecte tout à fait ou effleure à peine secondairement le reste de

(1) *Bull. Acad. Méd.*, 16 mai 1916.

l'axe bulbo-médullaire, y compris les centres supérieurs où réside le pronostic. Aussi ce pronostic est-il d'autant moins grave que les centres supérieurs sont mieux protégés par une injection de sérum plus récente. La mortalité la plus faible appartiendra donc à la forme la plus précoce, *le tétanos strictement localisé à la région blessée sans aucun trismus*, et pourtant ce tétanos ne survient que dans les conditions les plus favorables à la production et à l'utilisation de la toxine et qui seraient autant de facteurs de haute gravité dans la forme classique. Le tétanos sans trismus peut être précoce et intense, il reste localisé à sa région médullaire par une antitoxine encore suffisante, d'où son peu de gravité : sur vingt et une observations, deux morts (obs. III, Routier et obs. Vincent et Wilhelm) et encore le tétanos n'en est peut-être pas la cause unique.

Dans la forme un peu plus tardive, le tétanos à début localisé, l'apparition secondaire du trismus révèle une protection moins complète des centres supérieurs par une antitoxine qui s'épuise : la mortalité est plus fréquente, sans que nous soyons en mesure d'en préciser le chiffre.

Dans les cas tardifs le début par trismus indique l'accès libre du poison à tout l'axe médullaire et l'épuisement de l'antitoxine à peu près complet.

D'après MM. Bérard et Lumière (1), plus le tétanos débute longtemps après l'injection préventive, plus son pronostic est sévère et plus sa forme évolutive se rapproche de celle qu'affecte le tétanos précoce des sujets non injectés.

M. Bazy, dans sa statistique (2), a relevé une mortalité d'un tiers dans une série de cas, de moitié dans une autre.

Ainsi, dans les tétanos post-sériques tardifs ou précoces, c'est toujours l'action de l'antitoxine qui commande toute la maladie, symptômes et pronostic, et le tétanos est d'autant plus complet et plus grave qu'il se montre plus longtemps après l'injection préventive.

Présence et action de l'antitoxine sont elles-mêmes indiquées très nettement dans chaque cas par le mode de début : la tétani-

(1) *Bull. Acad. Méd.*, 16 mai 1916.
(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 26 janvier 1916.

sation initiale locale annonce une antitoxine active, le trismus d'emblée montre son épuisement.

Le traitement préventif devra s'inspirer des circonstances favorisantes que nous avons vues à l'œuvre : le sérum sera injecté aussitôt que possible et à la dose de 10 cent. cubes. Cette dose devra être augmentée d'emblée, doublée ou triplée en cas de plaie très étendue ou très anfractueuse ou particulièrement vouée à l'infection, ou encore si la blessure est voisine de l'axe rachidien ou bien si elle remonte déjà à deux jours ou davantage.

Dans ces derniers cas on se souvieudra que, la toxine cheminant plus vite que l'antitoxine, il est indiqué d'utiliser des voies d'absorption plus rapides et plus directes : voie intraveineuse ou intrarachidienne ; troncs nerveux, surtout commandant la région blessée : injection épidurale pour le membre inférieur, injection dans le plexus brachial pour le membre supérieur. Un employé du laboratoire de Behring blessé assez sérieusement à la main par les éclats d'un vase contenant de la toxine fut préservé par l'injection du sérum dans le plexus brachial découvert chirurgicalement. Si le blessé, dans les mêmes conditions très favorables au tétanos, n'a reçu dès le début que 10 cent. cubes, il sera utile de renouveler cette dose vers le 4e ou le 5e jour.

Enfin, comme l'enseignent M. Bazy et MM. Bérard et Lumière, il faut répéter l'injection de 10 cent. cubes tous les huit jours environ pendant un mois chez les blessés particulièrement infectés et en outre avant toute opération tardive.

En effet, à côté de la mobilisation possible par une intervention secondaire de germes latents chez un ancien blessé, il faut penser, quand le blessé peut avoir perdu sa protection sérique, aux risques de contagion possibles de la part des blessés voisins qui peuvent être tétanifères sans être tétaniques, si leur injection de sérum plus récente les protège encore efficacement contre la toxine élaborée dans leurs plaies. De semblables faits de contagion pourraient reproduire naturellement le tétanos précoce ordinaire.

L'efficacité protectrice du sérum s'use vite, mais il laisse le sujet sensibilisé pour longtemps. Aussi en cas de tétanos post-

sérique déclaré, lorsqu'on pratiquera des réinjections de sérum nécessaires au moins pour éviter de nouvelles irruptions de la toxine, sera-t-il prudent, suivant le conseil de M. Carnot (*loc. cit.*) et de M. Étienne (1), d'éviter les voies intraveineuse ou intrarachidienne qui, tout en exposant à des accidents anaphylactiques beaucoup plus graves, ne paraissent pas plus efficaces que la voie sous-cutanée contre le tétanos déclaré.

Cependant, d'après M. Govaerts (2), le tétanos post-sérique serait particulièrement accessible à la sérothérapie employée par la voie intrarachidienne; cette affirmation demanderait à être confirmée.

Bien entendu, en cas de tétanos déclaré chez un blessé non injecté, il faudra commencer le traitement par une injection de sérum massive et il y aura alors tout avantage à utiliser les voies d'absorption les plus rapides.

(1) *Paris Médical*, 29 avril 1916.
(2) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 6 mai 1916.

L'INFLUENCE DE L'ALCOOL ÉTHYLIQUE SUR LE DÉVELOPPEMENT DES CANCERS DE SOURIS

par TSURUMI.

Aux points de vue clinique et anatomique, il est incontestable que l'alcool a une grande influence sur la genèse et le cours de certaines maladies. Mais la relation qui existe entre le cancer et l'alcool a été beaucoup moins discutée. Newsholme (1903) [1] a noté d'après une statistique que la mortalité des cancéreux est plus grande parmi les alcooliques ; de même que le cancer de l'œsophage, selon l'observation de Hashimoto (1885) [2], se rencontre communément au Japon chez les buveurs de « saké » (1). Si la relation est avérée, on peut facilement l'expliquer en s'appuyant sur la « théorie de l'irritation ».

J'ai donc entrepris d'établir expérimentalement ce rapprochement en me servant de cancers animaux, mais la question de savoir quelle influence l'alcool peut avoir sur leur formation demeure obscure.

J'ai alors étudié l'effet de l'alcool injecté hypodermiquement, sur le développement des cancers de souris dont l'inoculation avait été pratiquée par la même voie et intraveineusement. Autant que je sache, peu d'études expérimentales ont été tentées dans ce sens.

Werner (1908) [3] a noté que la « scharlachrot », dissoute dans l'huile d'olive, a la propriété d'accélérer le développement anormal des cellules épidermiques et que, dissoute dans l'alcool, elle cause au contraire l'atrophie et la nécrose des cellules cancéreuses de souris, quand on l'injecte dans les tumeurs. Wrzosek (1912) [4] a traité des souris atteintes de cancer par des injections hypodermiques d'alcool et a fait, d'autre part, des expériences d'alimentation à base du même réactif; il a relevé dans quelques cas que l'alcool avait empêché le déve-

(1) Boisson fabriquée par la fermentation artificielle du riz et contenant en général 13 p. 100 d'alcool.

loppement des cancers, alors que dans d'autres il n'avait exercé aucune influence marquée. Mais il est regrettable que l'auteur manque de clarté dans sa méthode.

C'est pourquoi le problème qui se posait reste encore à résoudre.

Questions préliminaires.

Une première question est de savoir quelle quantité d'alcool peut supporter une souris de grosseur moyenne (de 15 à 16,5 gr.) quand elle est injectée par la voie hypodermique.

TABLEAU I. — **Toxicité de l'alcool éthylique sur les souris.**

DOSE D'ALCOOL ABSOLU inoculé sous la peau PAR SOURIS	NUMÉROS des SOURIS	RÉSULTATS
0,5 cent. cube	1.	† après quelques minutes.
	2.	† en 20 minutes.
0,3 cent. cube	3.	† en 10 minutes.
	4.	† en 30 minutes.
0,2 cent. cube	5.	† après quelques heures.
	6.	† après quelques heures.
0,1 cent. cube	7.	† après 1 heure.
	8.	† dans la nuit.
	9.	† dans la nuit.
	10.	A survécu.
DOSE D'ALCOOL ABSOLU dilué 5 ou 10 fois DANS L'EAU PHYSIOLOGIQUE	**NUMÉROS des SOURIS**	**RÉSULTATS**
0,1 cent. cube	1. 2. 3. 4.	Ont toutes survécu, mais donné des signes de faiblesse aussitôt après l'injection.
0,05 cent. cube	5. 6. 7. 8.	Aucun symptôme.

Le tableau ci-dessus montre que la dose minima mortelle d'alcool absolu est de 0,1 cent. cube; mais, après dilution, la

même dose a été supportée. Donc, son degré de concentration ayant en l'occurrence une grande influence, on en a dilué dix fois son volume dans une solution salée physiologique et constaté que 0,05 cent. cube de la solution n'exerçait pas d'influence appréciable.

Quant à la seconde question, celle de l'action hémolytique de l'alcool sur les hématies de souris, le tableau suivant en donnera la réponse.

TABLEAU II. A. — **Hémolyse sur les hématies lavées.**

POURCENTAGE D'ALCOOL ABSOLU		ALCOOL ABSOLU		EAU PHYSIOLOGIQUE		5 p. 100 D'HÉMATIES DÉFIBRINÉES	RÉSULTATS
50 p. 100	=	1,0 c.c.	+	0,5 c.c.	+	0,5 c.c.	Coagulat. immédiate.
25 p. 100	=	0,5 c.c.	+	1,0 c.c.	+	» »	Hémolyse tot. en 5 m.
15 p. 100	=	0,3 c.c.	+	1,2 c.c.	+	» »	Hémolyse tot. en 10 m.
10 p. 100	=	0,2 c.c.	+	1,3 c.c.	+	» »	Hémolyse tot. en 1 h.
5 p. 100	=	0,1 c.c.	+	1,4 c.c.	+	» »	Pas d'hémolyse.
1 p. 100	=	0,02 c.c.	+	1,48 c.c.	+	» »	Pas d'hémolyse.

B. — **Hémolyse sur les hématies défibrinées (non lavées).**

POURCENTAGE D'ALCOOL ABSOLU		ALCOOL ABSOLU		EAU PHYSIOLOGIQUE		5 p. 100 D'HÉMATIES DÉFIBRINÉES	RÉSULTATS
50 p. 100	=	1,0 c.c.	+	0,5 c.c.	+	0.5 c.c.	Coagulat. immédiate.
25 p. 100	=	0.5 c.c.	+	1,0 c.c.	+	» »	Hémolyse tot. en 5 m.
20 p. 100	=	0,4 c.c.	+	1,1 c.c.	+	» »	Hémolyse tot. en 10 m.
15 p. 100	=	0,3 c.c.	+	1,2 c.c.	+	» »	Hémolyse partielle.
10 p. 100	=	0,2 c.c.	+	1,3 c.c.	+	» »	Pas d'hémolyse.
5 p. 100	=	0,1 c.c.	+	1,4 c.c.	+	» »	Pas d'hémolyse.

D'après ces expériences l'alcool à 10 p. 100 n'a pas causé d'hémolyse sur les globules rouges de souris défibrinés, tandis qu'il l'a déterminée sur les globules lavés. Donc 0,5 cent. cube d'alcool à 10 p. 100 ne constituent pas une quantité visiblement efficiente. Cependant, quand on injecte la même quantité d'alcool à plusieurs souris, il arrive que quelques-unes présentent, pendant un court laps de temps, les signes de

l'ivresse. Mais, si l'on répète l'injection presque chaque jour, même avec une quantité de 0,06 ou 0,07 cent. cube, elles la subissent sans que le phénomène précédent se reproduise.

Expériences. — I.

Les tumeurs que j'ai employées pour mes expériences étaient deux cancers et un fuso-sarcome; après avoir appliqué le traitement ci-dessus pendant trois semaines pour les cancers et pendant deux semaines seulement pour le sarcome, on a sacrifié les souris et pesé les cancers qui s'y étaient développés, pour les comparer avec ceux de souris normales utilisés à titre de contrôle. Chaque fois qu'il s'est agi de tumeur à développement sous-cutané comme les précédentes, on a choisi, pour éviter le contact direct de l'alcool avec les cellules cancéreuses, le côté opposé pour la localisation de l'injection alcoolique; mais il n'est pas nécessaire d'en fixer le choix pour des injections intraveineuses de cancer au sujet desquelles je reviendrai plus loin.

La virulence des tumeurs dont je me suis servi est si grande qu'elles s'accroissent pratiquement de 100 p. 100; mais, quant à leur activité prolifère, elle est très différente. Ainsi, une sorte de cancer se développe avec une lenteur telle qu'il ne parvient qu'à 1 gramme après quatre ou cinq semaines d'inoculation, alors que l'autre s'élève en moyenne à 1 gramme après une semaine et à 1 gr. 5 après deux semaines. Quant au sarcome, il prolifère fortement puisqu'il atteint 0,7 gramme au bout d'une semaine d'inoculation; par conséquent, on ne peut constater d'immunité (avec la peau embryonnaire de souris) contre cette tumeur à moins d'un traitement spécial, car l'activité prolifère de la première semaine influe grandement sur le phénomène 1915) [5].

Dosage de la prolifération des tumeurs. — Ainsi que je l'ai dit, la prolifération des tumeurs diffère beaucoup de l'une à l'autre. J'ai donc utilisé le tissu sain de tumeurs, prises de dix jours à quatre semaines après l'inoculation; puis dans des conditions d'asepsie je l'ai sectionné au moyen de ciseaux tranchants jusqu'à ce qu'une émulsion uniforme fût obtenue, et cela sans aucune addition; 0,03 cent. cube de cette émulsion furent

inoculés sous le derme au moyen d'une seringue. Dans le cas d'injection intraveineuse, on a mis en suspension 0,3 cent. cube de l'émulsion cancéreuse dans 2 cent. cubes d'eau physiologique et injecté 0,03 cent. cube de cette suspension opaque dans la veine caudale des souris, d'après la méthode de Takahashi (1915) [6]; il est à noter que ladite quantité fut en général tolérée sans complication, mais il est survenu parfois qu'une embolie ait occasionné la mort. Trois semaines après cette injection, les souris traitées par l'alcool comme précédemment furent sacrifiées, les poumons retirés et mis en état de préservation; ceux-ci furent alors sectionnés en une série de points et minutieusement examinés afin que des croissances même microscopiques ne pussent être négligées.

Résultats.

Exp. I. — **Inoculation hypodermique** (*Cancer A, à développement rapide*).

Contrôle.

Poids des dix souris.	152 grammes.
— moyen d'une souris.	15,2 gr.
— des tumeurs des dix souris	11,8 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	1,18 gr.

Traitées par l'alcool.

Poids des onze souris.	165 grammes.
— moyen d'une souris	15 gr.
— des tumeurs des onze souris	7,59 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	0,69 gr.

Donc la différence entre les deux poids moyens des tumeurs est :

1,18 gr. — 0,69 gr. = 0,49 gr.

Quantités et dates des injections alcooliques.

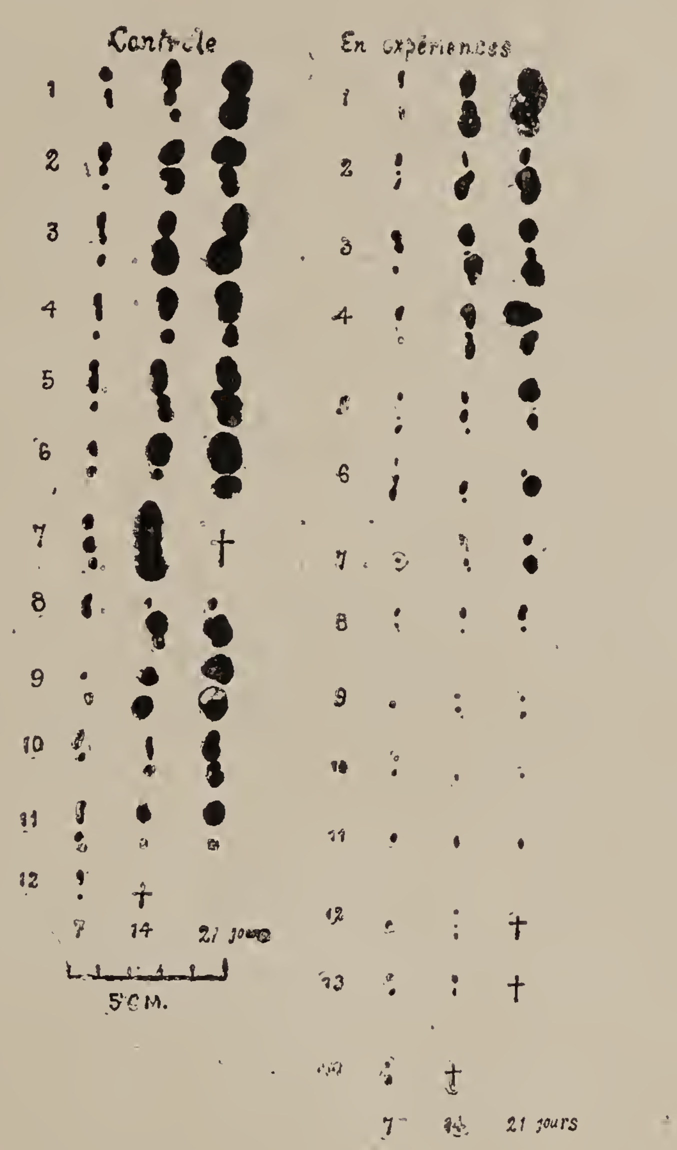
0,05 cent. cube : 4 juin 1915, 5 juin, 7 juin.
0,06 cent. cube : 8 juin, 9 juin, 11 juin, 12 juin, 14 juin, 15 juin.
0,07 cent. cube : 17 juin, 16 juin, 19 juin, 21 juin.
25 juin, † sacrifiées.

Total = 0,79 cent. cube.

La figure ci-contre montre très nettement les résultats de l'expérience précitée.

Il est facile de constater une grande différence entre les tumeurs témoins et en expériences; mais celles-ci n'ont pas

grossi également; c'est-à-dire que la plupart se sont développées peu ou pas du tout, tandis que les autres ont subi une influence plutôt favorisante sur leur activité prolifère. Aussi, pourrait-on demander pourquoi l'alcool n'a pas agi sur les tumeurs au même degré. Il est assez difficile d'en expliquer la cause, mais on peut naturellement supposer qu'il y a chez les souris, comme chez l'homme, une différence individuelle de résorption et d'assimilation de l'alcool. En d'autres termes, l'alcool injecté fut, chez certaines souris plus facilement que chez les autres, résorbé dans les vaisseaux sanguins et assimilé.



Exp. II. — **Inoculation hypodermique** (*Cancer B, à développement lent*).

CONTRÔLE.

Poids des sept souris.	106 grammes.
— moyen d'une souris.	15 gr.
— des tumeurs des sept souris. . . .	3,7 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	0,53 gr.

TRAITÉES PAR L'ALCOOL.

Poids des six souris	90 grammes.
— moyen d'une souris	15 gr.
— des tumeurs des six souris.	2,2 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	0,36 gr.

Donc la différence entre les deux poids moyens des tumeurs est :

0,53 gr. — 0,36 gr. = 0,17 gr.

QUANTITÉS ET DATES DES INJECTIONS ALCOOLIQUES.

0,05 cent. cube : 1er juin 1915, 2 juin, 3 juin, 4 juin, 5 juin.
0,06 cent. cube : 7 juin, 8 juin, 9 juin, 11 juin, 12 juin, 14 juin, 15 juin, 18 juin, 19 juin, 21 juin.
23 juin, † sacrifiées.

Total = 0,91 cent. cube.

EXP. III. — **Inoculations hypodermiques** (*Fuso-sarcome*).

CONTRÔLE.

Poids des quatre souris.	65,2 grammes.
— moyen d'une souris.	16,3 gr.
— des tumeurs des quatre souris. . .	6,8 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	1,7 gr.

TRAITÉES PAR L'ALCOOL

Poids des dix souris	165,7 grammes.
— moyen d'une souris.	16,5 gr.
— des tumeurs des dix souris	14,3 gr.
— moyen de la tumeur par souris . .	1,43 gr.

Donc la différence entre les deux poids moyens des tumeurs est :

1,7 gr. — 1,43 gr. = 0,27 gr.

QUANTITÉS ET DATES DES INJECTIONS ALCOOLIQUES

0,05 cent. cube : 30 juin 1915, 1er juillet, 2 juillet, 3 juillet, 5 et 6 juillet.
0,06 cent. cube : 7 juillet, 8 juillet, 9 juillet, 10 juillet.
0,07 cent. cube : 12 juillet, 13 juillet, 14 juillet.
15 juillet, † sacrifiées.

Total = 0,75 cent. cube.

II

Ensuite, j'ai poursuivi mes recherches quant à l'influence de l'alcool sur la formation de métastases dans les poumons de souris, du cancer à développement rapide qu'on avait inoculé intraveineusement d'après la méthode décrite précédemment. Après avoir appliqué aux souris injectées trois semaines du traitement alcoolique déjà mentionné, les poumons furent mis

en état de fixation et examinés. On aperçut facilement des métastases, en général de la grosseur d'une tête d'épingle, et qui donnèrent au microscope des images claires et nettes. Donc le résultat était confirmé par le double examen macroscopique et microscopique, les deux étant parfaitement conformes.

Exp. IV. — **Inoculation intraveineuse** (*Cancer A, à développement rapide*).

CONTRÔLE		EN EXPÉRIENCES			
1	+	1	—	15	—
2	—	2	—	16	+
3	+	3	—	17	—
4	+	4	—	18	—
5	—	5	—	19	—
6	—	6	+	20	—
7	—	7	—	21	+
8	+	8	—	22	+
9	+	9	—		
10	+	10	—		
11	—	11	+		
12	+	12	—		
13	+	13	—		
14	+	14	—		

Ce tableau montre que la formation de métastase du cancer fut évidemment limitée dans les souris traitées par l'alcool; c'est-à-dire que, sur 22 cas, 5 seulement furent positifs (22,7 p. 100), tandis que, sur 14 témoins, 9 donnèrent un résultat concluant (64,3 p. 100).

Malgré que le développement des œufs d'*Echinus microtuberculatus* ne subisse pas, d'après les expériences de Ziegler (1903) [7], d'influence notable dans de l'eau de mer qui contient de 0,5 à 1 p. 100 d'alcool, il en éprouve une, quand l'alcool s'élève à 2 p. 100; de sorte que la gastrulation ne s'accomplit pas seulement avec lenteur, mais aussi d'une façon anormale. Dans de l'eau de mer contenant 3 p. 100 d'alcool, la gastrulation anormale n'est obtenue que de quelques œufs, tandis qu'elle est nulle quand la concentration est à 4 p. 100. L'auteur a donc conclu de ce fait que l'alcool ralentit et enfin interrompt le progrès des divisions cellulaires.

Si l'on met en parallèle les expériences de Ziegler avec les miennes, malgré que leurs conditions ne soient pas exactement

identiques, les rapports que j'ai établis apparaîtront beaucoup plus clairement. Le poids des souris que j'ai employées variait de 15 à 17 grammes; chacune pesait donc en moyenne 16 grammes. Si la quantité de sang d'une seule souris égale le 1/13 ou le 1/15 de son poids, la proportion du sang pour 0,05 cent. cube d'alcool que j'ai injecté chaque fois, est de 4,1 ou 5 p. 100; de sorte que pour 0,07 cent. cube d'alcool, le pourcentage s'élève à 5,8 ou 6,6.

Ces chiffres font supposer que l'alcool injecté a été résorbé dans les vaisseaux sanguins. Donc, d'après Ziegler, lesdits pourcentages d'alcool ont rendu impossible le développement des œufs d'*Echinus microtuberculatus*; cependant dans mon cas, ils n'ont pu empêcher totalement le développement du cancer; cette différence doit être due aux raisons suivantes : premièrement, les cellules cancéreuses étaient dans un milieu différent; secondement, elles n'ont pu rester constamment au contact de la même concentration d'alcool, attendu que ce dernier, par un phénomène physiologique, est assimilé et excrété; en outre, on peut supposer que la résistance contre l'alcool des cellules cancéreuses de souris est plus grande que celle des œufs d'*Echinus microtuberculatus*.

J'ai déjà noté que l'hémolyse des hématies de souris lavées a lieu dans l'alcool à 10 p. 100 dilué dans de l'eau physiologique, alors qu'elle ne se manifeste pas dans l'alcool à 5 p. 100. Par conséquent, il est à présumer que la résistance des cellules cancéreuses et des hématies de souris contre l'alcool est différente.

Si l'on compare l'expérience de l'injection intraveineuse avec celles de l'injection hypodermique, il semble que l'influence de l'alcool sur le développement du cancer est plus marquante dans le premier cas que dans le dernier; c'est-à-dire que l'influence de l'alcool paraît différer selon la localisation des cancers. Mais, pour résoudre définitivement cette question, il sera nécessaire de répéter des expériences ultérieures.

Il s'agit aussi d'éclaircir certains points : d'abord, savoir quel rapport il y a entre l'alcool et l'activité prolifère des tumeurs; ensuite, si l'action de l'alcool est plus ou moins grande sur le cancer que sur le sarcome.

De plus, j'ai étudié *in vitro* la résistance des cellules cancé-

reuses contre l'alcool en procédant ainsi qu'il suit; j'ai mis un morceau de tissu sain d'un cancer de souris que j'avais converti en émulsion uniforme au moyen de ciseaux tranchants, dans de l'eau physiologique contenant 10 p. 100 d'alcool. Après avoir exposé successivement ce mélange à la température du laboratoire pendant 15, 30 et 45 minutes, j'ai éliminé l'alcool et injecté à chaque fois à l'aide d'une seringue 0,03 cent. cube de la tumeur sous le derme de 20 souris.

Simultanément et à titre de contrôle, j'ai injecté hypodermiquement 20 souris normales avec le même dosage de tumeur, laquelle, cette fois, n'était pas restée au contact de l'alcool. Ces souris de contrôle et en expérience ont été gardées dans les mêmes conditions et sacrifiées après trois semaines; les tumeurs furent alors retirées et pesées, mais on n'a pas constaté pratiquement de différence entre le développement des tumeurs de contrôle et en expérience.

Malgré que ce résultat ne concorde pas en apparence avec le précédent, on rencontre un fait semblable dans l'essai de Kuno (1913) [8], qui a étudié l'influence de l'alcool sur les animaux à sang chaud; d'après l'auteur, il n'agit jamais comme irritant sur le cœur du lapin, mais le paralyse dès le début d'autant que sa concentration s'accroît. Cette action de l'alcool n'est constatée que lorsqu'il circule dans les vaisseaux sanguins; en d'autres termes, si on l'élimine de l'appareil circulatoire, la fonction du cœur se rétablit; toutefois, cet organe s'habitue à l'influence de l'alcool quand l'expérience est répétée.

Je crois donc qu'on peut trouver dans l'exemple ci-dessus le phénomène analogue à celui qui se rattache à mon cas. D'où, l'influence de l'alcool sur les cellules cancéreuses *in vitro* est constatée, quand elles subissent le contact de la solution alcoolique; mais leur activité prolifère se rétablit quand le contact cesse. Naturellement, j'ai constaté ce résultat en l'espace de 45 minutes et en employant de l'alcool dilué à 10 p. 100 dans de l'eau physiologique.

Reste à savoir si l'on obtiendrait le même résultat quand la durée du contact est plus longue et la concentration de l'alcool plus élevée, malgré que les protéines des cellules cancéreuses de souris coagulent très rapidement dans une eau salée physiologique contenant 50 p. 100 d'alcool.

CONCLUSIONS.

Les injections hypodermiques d'alcool dilué à 10 p. 100 dans l'eau physiologique ont empêché, à degrés différents, le développement des tumeurs malignes de souris qui avaient été injectées sous le derme ou intraveineusement. Mais, quand elles sont restées au contact de l'alcool *in vitro* de 15 à 45 minutes, leur développement n'a subi aucune influence marquante.

Si l'on acceptait l'idée d'étendre le résultat de mes expériences au cancer de l'homme, il semble que l'alcool n'aurait pas sur son développement une influence favorisante directe, malgré qu'il produise l'effet contraire, d'après la théorie de l'irritation.

[1] A. NEWSHOLME. — The possible association of the consumption of alcohol with excessive mortality from cancer: *British med. journ.*, 1903, II, p. 1529.

[2] K. HASHIMOTO. — Beitrag zur Behandlung der Sarkome u. Karzinome. *Archiv f. klin. Chirurgie.* Bd XXXII, 1885, S. 11.

[3] WERNER. — Ueber den Einfluss des Scharlachrotes auf Mäusetumoren. *Münchener med. Wochs.*, No. 44, 1908.

[4] A. WRZOSEK. — Ueber den Einflus des Alcohols auf das Wachstum der Mäusekarzinome. *Zeitschr. f. Krebsforschung*, Bd XI, 1912, S. 515.

[5] M. TSURUMI. — On sarcoma immunity in mice. *Journ. of pathology and bacteriology.* Vol. XX, 1915.

[6] M. TAKAHASHI. — An experimental study of metastasis. *Journ. of pathology and bacteriology.* Vol. XX, 1915.

[7] E. ZIEGLER. — Ueber die Einwirkung des Alkohols auf die Entwickelung der Seeigel. *Biol. Centralbl.*, Bd XXIII, 1903.

[8] Y. KUNO. — Ueber die Wirkung der einwertigen Alkohole auf das überlebende Säugetierherz. *Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie,* 1913, 6. Heft, S. 399.

NOTE SUR LES DYSENTERIES DES DARDANELLES

par L. TRIBONDEAU et M. FICHET

Les recherches pratiquées au laboratoire de bactériologie du Ve arrondissement maritime (Toulon), sur la dysenterie parmi les malades évacués des Dardanelles, présentent un double intérêt : comme documents pouvant servir à écrire l'histoire médicale de notre corps expéditionnaire, et comme contribution à l'étude d'un groupe de microbes encore mal connus, les bacilles de Morgan.

Nous avons eu à examiner du 1er juillet au 15 novembre 1915 les selles de 217 malades rapatriés du C. E. O. pour dysenterie. Chez beaucoup d'entre eux, l'affection était en bonne voie de guérison à leur arrivée en France ; c'est là, sans doute, la principale raison du grand nombre des résultats négatifs (ni amibes, ni bacilles dysentériques dans 169 analyses bactériologiques). 48 examens seulement furent positifs.

Sur ce nombre, 10 fois les amibes étaient en cause, 38 fois, il s'agissait de bacilles dysentériques.

Les dysenteries bacillaires ont bien été contractées aux Dardanelles ; le fait est plus douteux pour les dysenteries amibiennes : 1 des malades était un ancien amibien, et 3 autres au moins avaient fait escale à Alexandrie où ils ont pu être contaminés.

Les germes isolés dans les 38 cas de dysenterie bacillaire furent :

23 fois le bacille de Shiga,
2 fois le bacille Y de Hiss,
13 fois des bacilles du groupe Morgan.

La fréquence relative de la dysenterie à bacille de Shiga était déjà un fait à noter, car, avant l'expédition des Dardanelles, on n'avait observé à Toulon (années 1912, 1913 et 1914) que des dysenteries à bacilles de Flexner ou de Hiss.

La découverte des bacilles de Morgan dans les selles dysentériques est une constatation plus originale. Jusqu'à ce jour, on ne soupçonnait ces microbes d'avoir une action pathogène que dans la diarrhée infantile épidémique (une bonne revue des travaux des auteurs anglais, sur ce sujet, a paru dans le *Bulletin de l'Office international d'Hygiène publique* d'avril 1913, p. 591). Leur présence dans les selles dysentériques de l'adulte est-elle fortuite? Nous ne le pensons pas. Il y a, au contraire, d'excellentes raisons pour leur accorder un rôle dans la maladie. D'abord, les malades observés avaient bien des selles diarrhéiques dysentériformes, contenant en abondance du mucus sanglant et purulent. Dans le mucus, les bacilles de Morgan existaient en grand nombre à l'exclusion de tout autre germe dysentérique. L'affection, dans tous les cas, a été sérieuse, de longue durée, marquée de rechutes fréquentes, et s'est terminée 2 fois par la mort; cependant, l'analyse n'a donné que des bacilles Morgan et le sérum des malades n'agglutinait, malgré la prolongation des atteintes et leur gravité, ni le Shiga, ni le Flexner. Enfin, inoculés aux animaux, les bacilles de Morgan, loin de se comporter comme de simples saprophytes, ont montré une virulence manifeste.

Les bacilles Morgan ont été isolés du mucus dysentérique sur gélose lactosée tournesolée. Ils s'y montrent sous forme de petites colonies bleutées, translucides, d'abord arrondies, puis s'étalant en minces prolongements à contours sinueux. Ils ne font pas fermenter la lactose. Autre caractère fondamental, ils ne prennent pas le Gram.

L'identification a été pratiquée dans les milieux suivants :

1° En bouillon Savage (glucose, rouge neutre), contenu dans un gros tube renfermant lui-même un tube à fermentation (tube étroit et court, introduit, ouverture en bas, dans le premier, avant passage à l'autoclave), il y a production constante de gaz qu'on peut déceler, dès les premières heures, par le procédé de Dubreuil (de Toulon), en éteignant dans le bouillon un fil de platine porté au rouge qui fait dégager une grande quantité de fines bulles de gaz. On voit, plus tard, du gaz s'accumuler dans le haut du tube de fermentation. — A leur sortie de l'organisme, les bacilles de Morgan font, de plus, virer

le milieu au rouge orangé ou au jaune canari ; après repiquages successifs, ils perdent plus ou moins cette propriété. — Ils donnent aussi une belle fluorescence dans les premières cultures.

2° En bouillon peptoné Martin : Trouble, puis trouble et dépôt. Production rapide et intense d'indol. Odeur fécaloïde très accentuée, s'atténuant après plusieurs repiquages.

3° En gélose au sous-acétate de plomb : Noircissement précoce du milieu le long des piqûres.

4° En milieux nutrosés-sucrés de Barsiekow : Lors des premières cultures, les bacilles isolés ont pu, d'après les réactions de fermentation (virage, coagulation), être groupés suivant 3 types.

Premier type (Morgan n° 1, des auteurs anglais) : lactose —, glucose +, mannite —, maltose —, saccharose — ; 7 cas.

Deuxième type (Morgan n° 3, des auteurs anglais) : lactose —, glucose +, mannite +, maltose +, saccharose + ; 1 cas.

Troisième type (Morgan n° 29, des auteurs anglais), 2 variétés :

A) : Lactose —, glucose +, maltose +. mannite —, saccharose + ; 2 cas.

B) : Lactose —, glucose +, maltose +, mannite —, saccharose + ; 3 cas.

Au total, pour ce troisième type, 5 cas.

Après repiquages et séjours prolongés en milieux de cultures, les propriétés fermentatives se sont modifiées, et les 13 échantillons n'ont plus fait fermenter que le glucose. Ces réactions fermentatives sont donc contingentes et une classification basée exclusivement sur elles n'est pas justifiée.

Une étude plus complète des bacilles de Morgan nous a donné les résultats suivants :

Forme et dimensions identiques à celles des bacilles dysentériques.

Mobilité inconstante (doit être recherchée en bouillon, au bout de 6 heures de culture ; et non en eau peptonée). Mobilité grande dans 7 échantillons, faible dans 4, nulle dans 2.

Les colonies de nos 13 Morgan contiennent toutes des bacilles ciliés, péritriches, en proportions variables suivant les échantillons. Les cils sont longs (7 à 14 μ ; en moyenne 9 μ), flexueux (2 à 6 spires ; en moyenne 4). Chaque microbe n'en possède le plus souvent qu'un, assez fréquemment 2, plus rarement 3 ou 4, exceptionnellement 5.

La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur gélose, l'aspect des colonies est celui du coli-bacille.

Ces microbes sont aérobies, et anaérobies facultatifs.

Les recherches d'agglutination et de déviation du complément, pratiquées avec le sérum sanguin des malades, se sont montrées négatives. Un seul des germes isolés était agglutiné faiblement par le sérum du malade, mais il l'était aussi par des sérums quelconques. Cette absence de réaction sérique n'est pas un phénomène exceptionnel dans les maladies microbiennes, et, pour ce qui concerne la dysenterie en particulier, MM. Remlinger et Dumas (1) viennent de découvrir dans l'Argonne un autre bacille dysentérique qui, lui aussi, n'est pas agglutiné par le sérum des malades.

L'hémoculture ne nous a jamais permis de déceler la présence du bacille de Morgan dans le sang des malades.

L'action pathogène expérimentale est des plus nettes. L'animal de choix pour les inoculations nous a paru être le cobaye.

Avec une culture en bouillon d'un germe récemment isolé des selles de l'homme, on tue le cobaye en 5 heures environ par injection de 0,2 cent. cube dans le péritoine. A l'autopsie, on constate une péritonite séreuse diffuse, avec exsudat louche, congestion intense de tous les organes abdominaux et taches ecchymotiques sur le gros intestin dont la muqueuse est œdématiée et l'épithélium desquamé. L'ensemencement du contenu intestinal, de l'exsudat péritonéal et du sang du cœur, donne le germe inoculé à l'état pur.

L'inoculation sous-cutanée, aux mêmes doses, n'est pas mortelle ; elle cause de l'œdème local, parfois une escarre, et permet d'obtenir l'immunisation du cobaye.

L'inoculation intraveineuse de 1/25 d'anse de colonie sur gélose, provoque une paralysie du train postérieur et la mort du cobaye dans une dizaine de jours.

L'absorption par la bouche, et l'injection intrarectale de fortes doses (1/2 anse de culture sur gélose diluée dans l'eau physiologique) n'ont occasionné aucun trouble.

Dans les cultures, la virulence diminue considérablement, mais elle est facile à récupérer par passages en péritoine de cobayes.

Les cultures mortes ne se montrent pas virulentes ; l'injection intrapéritonéale de 10 doses mortelles du bacille préalable-

(1) Ces *Annales*, t. XXIX, nº 10, octobre 1915, p. 498-519.

ment chauffé pendant une heure à 58°, n'a aucune action pathogène; elle détermine l'immunisation.

Il est aisé de vacciner les animaux (lapins, cobayes) par injections croissantes de bacilles vivants ou morts, d'abord sous la peau, puis dans les veines et le péritoine. Ils résistent ensuite à l'administration de plusieurs doses mortelles.

Le sang des animaux immunisés jouit de propriétés agglutinantes. Nous avons obtenu rapidement chez le lapin une agglutination à 1/500 pour le germe inoculé, et à 1/200 pour les autres Morgan. Il y a donc agglutination de groupe.

Il est à noter que ces bacilles ne sont pas agglutinés par les divers sérums antidysentériques ni par les sérums du groupe typhique, et que, d'autre part, le sérum anti-Morgan n'agglutine pas les bacilles dysentériques et les bacilles typhiques.

Nos bacilles Morgan ne produisent pas de toxines solubles. Une culture en bouillon vieille de 13 jours, filtrée sur bougie, est sans action sur le cobaye, même injectée à raison de 5 cent. cubes (25 doses mortelles) dans le péritoine.

Nous avons recherché la présence d'une endo-toxine par le procédé de l'autolyse aseptique (Conradi), sans concentration du filtrat dans le vide. L'injection de 5 cent. cubes de ce filtrat dans le péritoine du cobaye ne détermine aucun trouble. A la dose de 10 cent. cubes, nous avons observé une hémiparésie, avec retour à l'état normal au bout de 3 jours. Il existe donc une endo-toxine.

Le sérum des animaux immunisés possède un pouvoir préventif et curatif.

Le pouvoir préventif est démontrable *in vitro* et *in vivo*. Une dose sûrement mortelle (en 5 heures) de bacilles additionnée de 1 cent. cube de sérum de lapin immunisé, est inactive en injection intrapéritonéale chez le cobaye. *In vivo*, un cobaye qui a reçu préalablement, dans le péritoine ou sous la peau, 2 cent. cubes de sérum de lapin anti-Morgan, résiste à l'inoculation intrapéritonéale d'une dose sûrement mortelle (en 5 h.) pratiquée 24 heures plus tard. On constate alors le phénomène de Pfeiffer.

Le pouvoir curatif est mis en évidence par la survie des animaux. Pratiquée après inoculation dans le péritoine d'une dose sûrement mortelle en 5 heures, l'injection de 2 cent. cubes de sérum de lapin anti-Morgan sous la peau donne les résultats suivants : 1 h. 30 après l'inoculation, à un moment où l'animal présente déjà des symptômes généraux d'infection, elle le guérit; au bout de 2 heures, elle n'amène qu'une survie de quelques heures sur le témoin inoculé et non traité par le sérum ; plus tardive elle n'a plus d'action.

Ces diverses constatations montrent qu'il serait possible, au cas où une épidémie due aux bacilles de Morgan viendrait à se produire, de pratiquer chez les malades une sérothérapie spécifique. L'éventualité est vraisemblable, même en France, car, en dehors des cas provenant des Dardanelles, nous avons observé à Toulon 5 dysenteries à bacilles de Morgan, dont 3 se produisirent en l'espace de 2 jours parmi les troupes d'un même cantonnement et causèrent 1 décès. Dans ces dernières atteintes, le rôle des mouches, comme agent propagateur de la maladie, a été indiscutable. On savait déjà, par les travaux des auteurs anglais, quelle part importante peut être attribuée à ces insectes dans la dissémination du bacille de Morgan, considéré par eux comme une des causes de la diarrhée épidémique infantile. On est donc en droit de penser qu'entre autres affections intestinales qui ont sévi chez nos soldats, la dysenterie à bacilles de Morgan a pu être propagée par les mouches, dont nos troupes des Dardanelles ont beaucoup souffert.

Conclusions. — Il semble que, dès maintenant, on peut attribuer un rôle aux bacilles de Morgan dans la pathogénie de certaines dysenteries contractées surtout aux Dardanelles et aussi en France.

C'est un groupe de plus à ajouter à la liste, chaque jour croissante, des bacilles dysentériques.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Août. — N° 8.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET C[ie], ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE . **20** francs

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et C[ie],
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 8

30e ANNÉE AOUT 1916 N° 8

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDES SUR LE BACILLE DE SHIGA

par M. NICOLLE, E. DEBAINS et G. LOISEAU.

Le bacille de Shiga, depuis sa découverte, a fait l'objet de multiples travaux. Sans vouloir diminuer leur mérite global, nous sommes obligés de constater qu'on y trouve beaucoup de lacunes, des notions souvent imprécises et même quelques erreurs. D'où notre idée de publier les recherches qui suivent et qui ont été poursuivies avec un souci constant de l'exactitude (1).

Nous envisagerons, successivement : la *toxicité* du microbe, son *agglutinabilité* et son *pouvoir agglutinogène*, la préparation et les caractères de l'*antitoxine spécifique* — puis, nous essaierons de donner une *vue d'ensemble* sur le bacille de Shiga.

TOXICITÉ

Comme *animaux d'expérience*, nous avons choisi des *lapins* de 2.000-2.500 grammes, des *cobayes* de 500-600 grammes et des *souris* de 20 grammes.

(1) Depuis 1902, nous avons fait, soit seul, soit avec divers collaborateurs, de très nombreuses recherches sur le bacille de Shiga. Certaines se trouvent mentionnées au cours d'un mémoire de Salimbeni (*ces Annales*, t. XXVII, p. 122, février 1913), qui les a vérifiées et étendues. D'autres, poursuivies avec Loiseau et Forgeot, inédites bien que rédigées avant 1913, ont été englobées dans le travail que l'on va lire. — M. NICOLLE.

Expériences sur les lapins.

Une première question surgit, avant d'aller plus loin : *le bacille de Shiga est-il virulent*? Non, disent la majorité des auteurs, même en s'adressant au lapin, réactif classique de ce bacille. Aussi bien les germes morts, les extraits microbiens et les filtrats de cultures liquides se comportent absolument comme les germes vivants. Mais que deviennent ceux-ci *in vivo*? Dörr ne les retrouve que localement, lors des injections sous-cutanées, et pas du tout, lors des injections intraveineuses. Voici ce que nous avons observé, avec des échantillons sans doute moins toxiques que les siens.

Injections sous-cutanées. — Persistance jusqu'à la mort, *loco læso*; aucune pénétration dans l'organisme (sang, foie, bile, muqueuse cæcale, selles, reins, urine, rate).

Injections intraveineuses. — Absence constante dans : la muqueuse cæcale, les selles, les reins, l'urine, la rate. Présence, pendant 24 heures au plus, dans le sang; persistance, constante dans le foie et inconstante dans la bile, jusqu'à la fin. — Après introduction de doses non mortelles, on ne rencontre aucun germe chez les sujets sacrifiés.

Donc, conservation régulière des bacilles dans le foie seul, quand les animaux succombent et, sans doute, quand la toxicité de ces bacilles n'est pas considérable (c'est-à-dire, lorsque la masse nécessaire pour tuer demeure *relativement* élevée). Faut-il parler de virulence? La discussion serrée de ce point délicat nous entraînerait trop loin; disons que tout se passe *pratiquement* comme si le microbe de Shiga était avirulent.

Activité des germes vivants, des germes morts, des extraits microbiens et des filtrats.

Germes vivants.

Sous la peau, la dose mortelle varie de 1 à 5 centigrammes (cultures de 24 heures, sur gélose-pomme de terre) (1), selon les échantillons. *Dans les veines*, il suffit de quantités 10 fois plus faibles pour fournir les mêmes résultats. Nous n'avons pas

(1) *Ces Annales*, t. XXIII, p. 548, en note, juillet 1909.

rencontré de ces microbes, décrits par certains auteurs et qui tueraient le lapin sous la masse réduite de 10^{-1}, $0{,}5.10^{-1}$, 2.10^{-2}... d'anse (mode de titrage du reste peu précis).

Germes morts (chauffés).

La température de 55° (1/2 heure) ne modifie pas l'activité du b. de Shiga; la température de 100° (5 minutes) l'atteint profondément : les sujets résistent, mais peuvent maigrir beaucoup, surtout après injection intraveineuse.

Extraits microbiens.

Nous les avons préparés à l'aide de *deux méthodes principales* : *autolyse* et *technique Rowland*. Les premières expériences d'autolyse de l'un de nous doivent être contemporaines de celles de Conradi, sinon antérieures ; le procédé, très différent, a été indiqué ailleurs (*ces Annales*, février 1913); les extraits obtenus offrent une grande toxicité. La technique Rowland, plus simple et moins délicate, suffit amplement en pratique ; voici comment nous opérons (*toutes les manipulations qui suivent doivent être faites aseptiquement*).

Les bacilles vivants, exactement pesés et mis dans un mortier stérile, sont abandonnés au froid (1 heure environ). On ajoute ensuite une partie et demie de sulfate de soude, fraîchement calciné, en broyant sans cesse. Le mélange devient d'abord assez fluide, puis sa consistance croît progressivement et il finit par prendre l'état pulvérulent. Le refroidissement préalable combat l'élévation thermique et accélère beaucoup la dessiccation.

La poudre, conservée à l'abri de l'humidité, réalise une source de toxine d'énergie constante. 1 gramme représente habituellement 0,4 gramme de germes frais (perte d'eau, pendant l'opération); les différences (en plus), qu'offrent quelques échantillons, demeurent vraiment négligeables.

Pour obtenir les extraits, on ajoute 20 cent. cubes d'eau distillée à 1 gramme de poudre (dissolution du sulfate de soude et émulsion des corps bacillaires); on abandonne pendant 24 heures au froid et on passe ensuite sur terre d'infusoires, d'après le procédé suivant, que M. Nicolle emploie depuis plus de 20 ans.

Introduire, dans un tube à essai, quelque peu de terre d'infusoires, de quoi remplir le fond arrondi; verser 20 cent. cubes d'eau, boucher et agiter fortement. Préparer un autre tube, avec petit entonnoir et filtre plissé. Porter la suspension de terre sur ce filtre ; le liquide passe clair et la poudre tapisse régulièrement le papier. L'écoulement terminé, rejeter, bien entendu, l'eau et verser (par portions) l'émulsion bactérienne, qui passe, elle aussi, parfaitement limpide. — Quand on veut obtenir plus de 20 cent. cubes de

toxine, multiplier les filtres ou les choisir plus grands (pas trop) et les revêtir d'une couche toujours suffisante de terre d'infusoires. — Cette méthode si simple de clarification nous rend des services journaliers, notamment pour éviter l'emploi de la bougie dans le cas de germes sans virulence et pour le faciliter dans le cas opposé (la bougie étant destinée à *stériliser et non à clarifier* — on ne cesse de l'oublier).

Le b. de Shiga abandonne environ 50 p. 100 de sa toxine au liquide d'extraction et infiniment peu de ses albuminoïdes. Les « solutions » les plus actives tuent le lapin sous le volume de $0,5.10^{-1}$ cent. cube (voie intraveineuse). — Elles contiennent, sauf dans le cas de poudres très anciennes, un nombre, négligeable d'ailleurs pratiquement, de microbes vivants.

Remarque. — Nous ne saurions trop admirer les auteurs qui réussissent à faire *autolyser* les germes préalablement tués par la chaleur.

Filtrats.

La toxine se forme vite dans le bouillon Martin (simple ou mieux glucosé à 0,2 p. 100), mais elle n'acquiert habituellement sa concentration maxima qu'après 10-12 jours. Il est aisé de rencontrer des échantillons dont les filtrats amènent la mort à 10^{-1} cent. cube par la voie intraveineuse et à 1 cent. cube par la voie sous-cutanée.

Les filtrats *doivent* être plus sensibles au regard de la chaleur que les extraits et ceux-ci plus sensibles que les germes vivants. Mais les différences de réceptivité individuelle des animaux ne permettent pas d'apprécier, avec exactitude, les différences certainement plus faibles de vulnérabilité des trois produits toxiques.

Fonction toxigène du b. de Shiga.

Elle varie, avons-nous dit, selon les différents spécimens. — Elle s'est conservée intégralement, pour notre culture S., pendant 13 ans, sans précautions spéciales. — Elle n'a été que peu ou pas influencée, pour notre culture D., par l'effet prolongé de températures relativement très élevées.

Nous avons fait, avec l'échantillon D, ensemencé parallèlement sur gélose-pomme de terre et en bouillon Martin :

14 passages journaliers à 42°5, puis
13 — — à 45°, puis
13 — — à 46°, puis
74 — — à 47°.

De temps à autre, on titrait la toxicité des cultures-filles (gélose-pomme de terre. — 24 heures — 37°). Même après les 114 passages, l'activité n'avait point varié (bouillon Martin) ou n'offrait qu'un fléchissement léger (gélose-pomme de terre).

Effets de la toxine.

Les animaux, injectés dans les veines, peuvent mourir après un laps de temps fort variable : de quelques heures à 5-6 jours (rarement davantage) — ou guérir, ayant présenté des symptômes plus ou moins graves et plus ou moins durables. C'est affaire de dose et d'énergie, pour la toxine ; de résistance, pour le sujet. Répétons que *la sensibilité individuelle des lapins offre des différences parfois très grandes.*

Les animaux, injectés sous la peau, ne succombent jamais avant 1 jour et demi.

Nous aborderons, successivement : l'étude anatomo-clinique générale — l'étude des lésions du cæcum — l'étude des réactions cutanéo-sous-cutanées (injections hypodermiques).

Étude anatomo-clinique générale.

On peut distinguer les 4 *types* suivants :

Mort en 3-12 heures. — Cliniquement. Diarrhée ou non, hébétude, polypnée. Puis, respiration de plus en plus pénible, chute sur le côté, coma; pauses respiratoires précédant l'arrêt ultime ; convulsions, perte du réflexe cornéen, mort. — *A l'autopsie.* Le cœur bat; liquide abondant ou non dans le cæcum (rarement très léger œdème de celui-ci); coagulation du sang retardée; rien de spécial dans les viscères.

Mort en 1-2 jours. — Cliniquement. Le jour même, accidents transitoires (*ut supra*) inconstants — lors d'injection intraveineuse. *Le lendemain.* Tantôt, état presque normal (mort en 2 jours); tantôt, apparition de phénomènes paralytiques affectant le train antérieur et parfois suivis, à bref délai, de l'affaissement terminal. Diarrhée ou non. La paralysie du train antérieur, habituelle et *caractéristique*, se traduit par les symptômes suivants : l'animal évite de marcher ; lorsqu'on l'y oblige, une des pattes se dérobe, soit en glissant au dehors, soit en fléchissant sous l'épaule ou bien les deux pattes, brusquement écartées, jaillissent à angle droit et la tête tombe. D'ailleurs, la

paralysie cervicale accompagne souvent la diplégie brachiale; l'arrière-train, fortement relevé, donne alors au sujet une attitude typique et la moindre poussée engendre la culbute « tête première ». La diarrhée n'est pathognomonique que si elle revêt le caractère de melæna ou de selles franchement sanglantes. L'affaissement terminal se traduit par la paralysie complète, la narcose avec respiration régulière et superficielle, l'hypothermie et la miction involontaire (regorgement). *Le surlendemain*, il est rare que l'animal ne soit pas déjà en plein état comateux. Celui-ci se termine toujours par arrêt respiratoire. — *A l'autopsie.* Le cœur bat; coagulation du sang retardée. Congestion du foie et des reins; rate petite. Vessie fortement distendue. Lésions cæcales plus ou moins avancées (grande variété, selon les sujets). Rarement, épanchement séreux dans le péritoine; exceptionnellement, épanchement sanguin.

Mort en 3-6 jours. — Cliniquement. On voit se succéder, plus ou moins vite : l'*émaciation*, obligée, qui continue jusqu'à la mort et devient fréquemment excessive; la *paralysie du train antérieur*, presque constante, mais guérissant parfois avant la fin; la *diarrhée*, faisant volontiers défaut et souvent modérée; le *stade d'inertie* terminal. L'amaigrissement débute le lendemain ou le surlendemain de l'injection; la paralysie du train antérieur et la diarrhée le surlendemain, le 4e jour, voire le 5e. Le coma ultime peut se prolonger 2 et même 3 fois 24 heures, pendant lesquelles on se demande, à chaque moment, si l'animal vit encore; c'est le *cadaveris imaginem refert* de Borsieri, dans la plénitude de son acception. — *A l'autopsie.* Le cœur bat; coagulation du sang retardée. Nécroses hépatiques (en jeu de patience); reins café au lait; rate petite. Vessie distendue. Lésions cæcales d'aspect varié, mais habituellement très accentuées.

Guérison. — Tantôt (injection intraveineuse), accidents graves (diarrhée profuse, affaissement extrême, troubles respiratoires menaçants), dont le sujet se remet peu à peu; émaciation ultérieure (parfois —400 grammes). Tantôt, évolution sur le type de la mort en 1, 2, 3... 6 jours et amendement inespéré des symptômes; l'animal « revient souvent de loin » (coma profond, diarrhée intense, perte de poids atteignant 600-700 grammes). Tantôt enfin, phénomènes transitoires (injection intraveineuse ou sous-cutanée) : diarrhée modérée, paralysie du train antérieur, amaigrissement (ne dépassant pas 500 grammes).

Étude des lésions du cæcum.

La fréquence des lésions intestinales a été très diversement appréciée par les auteurs. On peut dire qu'elles manquent rarement, si la mort survient après 1 jour 1/2 (et davantage). Elles se localisent au niveau du cæcum, intéressant exceptionnellement l'origine du côlon ascendant et jamais l'appendice.

Le *cæcum du lapin*, très volumineux, simule assez bien un côlon transverse, pour l'observateur non prévenu. Il se continue, d'une part, sans diminution de diamètre, avec l'origine du côlon, reconnaissable à ses trois bandelettes longitudinales et aux trois séries de dilatations sacciformes qu'elles séparent — d'autre part, en s'effilant, avec l'appendice vermiculaire.

L'intestin grêle finit dans le cæcum, près du côlon, par une ampoule aux parois épaisses et gorgées de tissu lymphoïde (lequel se prolonge sur la valvule de Bauhin).

La longueur du cæcum varie entre 30 et 35 centimètres, celle de l'appendice entre 7 et 10 (intestin grêle : 3 mètres; côlon et rectum : 1 mètre). A la surface du cæcum, court un pli hélicoïdal; les spires (deux douzaines) sont espacées de 2 centimètres; vers l'appendice (dont l'aspect demeure complètement uni), elles se rapprochent, s'effacent, puis disparaissent. La paroi du cæcum est mince, sauf au niveau du pli hélicoïdal (valvule connivente) qui fait, sous la muqueuse, un relief de 5 millimètres de largeur. Tandis que le cæcum n'offre que de simples follicules clos, l'appendice constitue une énorme glande lymphatique enroulée; sa paroi est très épaisse.

[Voir, pour plus de détails, l'*Anatomie du lapin*, de Krause.]

La capacité du cæcum représente environ *10 fois* celle de l'estomac: il contient, normalement, de la bouillie fécale stagnante et putride.

Dörr admet, avec raison, les 3 stades suivants dans la typhlite spécifique.

Stade d'œdème. — Le cæcum, affaissé, offre un aspect translucide spécial (état vitreux, état gélatineux, comme on voudra). Épaissi et rigide au toucher, infiltré de sérosité à la coupe, tous les détails de sa muqueuse s'exagèrent, lorsqu'on examine le canal fendu en long.

Stade d'hémorragie. — *Hémorragies interstitielles.* L'intestin, *in situ*, apparaît tacheté de placards rouge sombre ou rayé de zébrures, également foncées et dessinant la direction des spires de l'énorme valvule connivente (*supra*); celles-ci forment, intérieurement, des saillies prononcées, refoulées qu'elles sont par la suffusion sanguine. *Hémorragies sous-muqueuses.* Pétéchies isolées ou associées aux hémorragies interstitielles. *Hémorragies sous-séreuses.* Isolées (rarement) ou associées soit à l'une des précédentes, soit aux deux. — L'intestin, dont l'état de distension varie beaucoup, renferme un liquide tantôt sépia, tantôt rougeâtre. Dans les cas extrêmes, on le trouve turgescent, couleur lie de vin et l'incision laisse échapper du sang, souvent spumeux, mêlé de caillots.

Stade de nécrose. — Les animaux succombent presque toujours avant ce stade. L'escarrification débute sur la crête de la valvule connivente (aspect grisâtre ou brunâtre) et s'étend superficiellement et profondément.

[Le *stade de cicatrice* constitue une *exception rarissime.*]

Étude des réactions cutanéo-sous-cutanées.

Leur intensité se relie, plus encore que celle des autres réactions, à la sensibilité individuelle des sujets. Il n'existe, d'ailleurs, aucun rapport entre les « réponses » tégumentaires et les « réponses » nerveuses ou viscérales, pour la même série de lapins, intoxiqués pareillement.

Nous distinguerons *2 cas*, selon que l'on a introduit sous la peau soit la « toxine soluble » (extraits, filtrats), soit la « toxine

solide » (germes vivants, germes morts), et nous nous adresserons aux observations d'animaux guéris, pour reconstituer le cours entier des symptômes locaux.

« *Toxine soluble* ». — *Le lendemain* de l'injection : empâtement mou, de volume variable ; sur cet empâtement, placard érythémateux offrant, vers son centre, une tache violette, verdâtre ou mélangée (surface comparable à celle de 1 franc, 2 francs et davantage). *Le surlendemain*, infiltrat hypodermique plus étendu ; plaque congestive très pâle ; tache brunâtre et légèrement humide. *Le 4e jour*, œdème diminué et rénitent ; lésion cutanée sèche et noircissante. *Le 5e jour*, l'empâtement s'aplatit et offre une consistance chondroïde. *Du 6e au 8e jour*, il forme disque. *Puis*, ce disque diminue de plus en plus. L'escarre se détache à la longue, montrant un ulcus déjà cicatrisé en grande partie. Tout est fini 15-25 jours après l'injection.

Les lésions qui viennent d'être résumées constituent ce que nous appelons depuis longtemps, au laboratoire, l'escarrification du « type V » (mode mineur de l'escarrification humide ; V = tache violette). Leur intensité varie selon la dose et l'énergie de la toxine, la sensibilité individuelle de l'animal ; elles peuvent devenir le point de départ *d'infections* (pneumocoque et *pasteurella*, d'ordinaire), surtout lorsqu'elles sont très étendues.

Chez les sujets peu réceptifs, chez ceux qui ont reçu du poison chauffé à 100°, on n'observe qu'un œdème transitoire, avec ou sans érythème concomitant.

« *Toxine solide* ». — *Règle générale*. Toutes les toxines « solubles », susceptibles d'intéresser les téguments et introduites à dose convenable, produisent, selon leur nature, soit l'escarre sèche soit l'escarre humide et (dans les deux cas) l'ulcus consécutif. Toutes les toxines « solides », à dose convenable, engendrent le *bourbillon*, même en l'absence d'escarre. Nos travaux antérieurs, qui ont permis d'établir cette règle, démontrent également l'identité de la toxine « soluble, et de la toxine « solide » pour chaque germe envisagé.

On ne s'étonnera *donc* pas de rencontrer des bourbillons sous-cutanés, chez les lapins traités par les bacilles de Shiga vivants ou morts, qu'il y ait eu nécrose antécédente de la peau ou simple œdème initial.

Expériences sur les cobayes.

Le cobaye se montre médiocrement sensible au poison du bacille de Shiga et surtout ne réagit pas de façon caractéristique. Tous les auteurs l'ont noté ; certains en infèrent que ce bacille sécréterait une « toxine-cobaye », distincte de la « toxine-lapin », tandis que d'autres attribuent les accidents observés à des « protéides microbiens » de nature banale.

Il est vrai que l'on ne saurait distinguer ici les effets du b. de Shiga de ceux provoqués par des germes très différents. Mais depuis quand un effet, d'allure banale, exclut-il l'influence d'une cause spécifique ? — Relativement à la présence de deux

poisons distincts, on ne pourrait l'admettre, en bonne logique, que si certains échantillons du bacille de Shiga se révélaient plus toxiques pour le cobaye que pour le lapin.

Ceci posé, indiquons quelques chiffres qui fixeront les idées. 1 cent. cube de toxine « soluble » détermine, sous la peau, soit l'œdème transitoire, soit l'œdème avec escarre du type V (minime — pas de bourbillon, naturellement); dans les veines, cette dose engendre des phénomènes généraux curables, suivis d'émaciation marquée. — 5 centigrammes de toxine « solide » provoquent, sous la peau, une escarre du type V assez étendue et compliquée de bourbillon; 1 centigramme tue dans les veines (0,5 centigramme presque toujours aussi, mais plus lentement).

Nous décrirons les *3 types* suivants :

Mort en 6-18 heures. — [1 centigramme de toxine « solide » dans les veines.] *Cliniquement.* Une heure après l'injection, exophtalmie, nystagmus, hébétude, immobilité. Titubation, polypnée, souvent ventre gros. Sensibilité thoraco-abdominale, ainsi caractérisée : quand on presse le sujet entre les doigts, il émet un cri bref, colle ses oreilles contre le crâne et saute violemment en avant, d'une seule pièce; si on insiste, il tombe sur le côté, s'agite, puis demeure inerte (état de mort apparente : arrêt respiratoire, perte du réflexe cornéen, battements cardiaques imperceptibles). Bientôt, le réveil a lieu, mais l'animal s'achemine progressivement vers le coma ultime. Enfin, hypothermie, chute sur le côté, respiration de plus en plus rare et automatique (soif d'air), mort. — *A l'autopsie*, congestion très marquée des viscères abdominaux : parfois hémopéritoine (lors de terminaison rapide); ailleurs, existence fréquente d'un épanchement rosé intra-abdominal.

Mort en 24 heures. — [0,5 centigramme de toxine « solide » dans les veines.] 2-3 heures après l'injection, abattement, poil piqué, trémulation, dyspnée, sensibilité thoraco-abdominale et souvent ventre gros. Le lendemain, stupeur, coma progressif et mort. — *A l'autopsie*, mêmes lésions que tout à l'heure, moins l'hémopéritoine.

Mort en quelques jours ou guérison. — [0,5 centigramme de toxine « solide » ou 1 cent. cube de toxine « soluble » dans les veines.] Phénomènes généraux, pouvant durer 24 heures et disparaissant ensuite. Émaciation marquée, s'aggravant jusqu'à la fin ou retour très lent au poids normal. — *A l'autopsie* des cas mortels, simples taches nécrotiques sur le foie (atrophie concomitante des organes, bien entendu).

Un mot des *réactions cutanéo-sous-cutanées.*

Type V moyen. — [5 centigrammes de toxine « solide » sous la peau.] *Le lendemain* de l'injection, empâtement mou, offrant environ le volume d'une noix. Sur cet empâtement, tache violette de nuance variable (très pâle, gris perle, rose violet, lie de vin, parfois brun foncé, assez souvent mélangée), un peu humide dans certains cas et dont la surface équivaut à celle d'une

pièce de 0 fr. 50-1 franc. *Le surlendemain*, infiltrat hypodermique stationnaire ou plus étendu, lésion cutanée sèche et brune. *Le 4e jour*, œdème aplati et rénitent, escarre noire. *Le 5e jour*, l'empâtement, dur, forme disque et enchâsse la plaque nécrotique qui se soulève déjà sur ses bords. *Le 6e-7e jour*, l'escarre tombe, entraînant une partie du bourbillon sous-cutané, dont le reste tapisse l'ulcus mis à nu. *Puis*, cicatrisation progressive de cet ulcus et résorption corrélative de l'infiltrat circonvoisin. Tout est fini 12-15 jours après l'injection.

Expériences sur les souris.

On tue facilement la souris, sous la peau, avec 0,25 milligramme de germes vivants et $0{,}25.10^{-1}$ cent. cube d'extrait. La mort survient alors en 3 jours-3 jours 1/2. Des doses supérieures peuvent faire périr les sujets en 2 jours, 1 jour et même 12 heures.

Lorsque la mort survient après 3 jours-3 jours 1/2, les accidents ne débutent que le 4e (le jour de l'injection étant dénommé le premier — donc incubation longue). Ils se caractérisent ainsi : stupeur, poil piqué, *démarche* incertaine et *trémulante*. Quand on met l'animal sur le dos, les efforts qu'il fait pour se relever occasionnent de violentes convulsions, suivies d'épuisement. Respiration saccadée; quelquefois état parétique, surtout au niveau des membres antérieurs. Finalement, inertie, périodes de mort apparente, souvent entrecoupées d'accès cloniques, refroidissement, arrêt final de la respiration. — L'autopsie ne révèle rien de spécial.

AGGLUTINABILITÉ ET POUVOIR AGGLUTINOGÈNE

Nous avons préparé des sérums actifs avec les *lapins* et les *chevaux* (il ne sera question, pour le moment, que du « cheval alcool-éther »).

Immunisation des animaux.

On s'est servi, exclusivement, de germes tués par l'alcool-éther et obtenus comme il suit.

On ensemence une série de boîtes de Roux, contenant de la gélose à la pomme de terre. Après 24 heures (37°) : émulsion des dépôts microbiens en eau physiologique et turbinage (centrifuge de Jouan). On traite ensuite les culots par un excès d'alcool-éther (āā) et, le lendemain, on dessèche la masse bactérienne vers 40° (appareil de Jouan).

Le *cheval*, dont l'observation complète sera rapportée ailleurs, a reçu, d'abord sous la peau puis dans les veines, des *émulsions simplement bouillies* (5 minutes).

Les *lapins* ont reçu, deux fois seulement, des *émulsions détoxiquées à la pipéridine* (0,1 gr. dans les gastrocnémiens; 8 jours d'intervalle; saignée 8 jours après la seconde injection).

On délaie 0,1 gr. de germes alcool-éther secs avec 1 cent. cube d'eau physiologique ; on ajoute 1 cent. cube de pipéridine au 50e ; on mêle intimement et on plonge 5 minutes dans l'eau bouillante, en tube scellé. Le traitement par la pipéridine (inspiré des anciennes recherches de l'un de nous et de Frouin) altère incontestablement les propriétés antigènes, mais beaucoup moins que la toxicité.

L'immunisation du cheval (échantillon S = Shiga-origine) a pu être poussée très loin sans rien provoquer d'anormal. L'immunisation des lapins (échantillons S et D; D = Dopter) a comporté des pertes variables, selon la sensibilité individuelle des animaux et, dirait-on, des séries d'animaux. Dans tel lot de 6 lapins tout se passe le mieux du monde et dans tel autre on voit mourir (après la première ou la seconde injection) un, deux et même trois sujets. — Ajoutons que 0,1 gr. de bacilles alcool-éther, simplement bouillis, tue toujours les animaux, parfois très vite (2 heures).

Préparation des émulsions microbiennes.

Les germes, cultivés sur gélose-pomme de terre (sans eau de condensation), en partant d'une semence jeune sur gélose-Martin, étaient suspendus, après 24 heures d'étuve, dans l'eau physiologique, à raison d'un centigramme de corps bacillaires par 20 cent. cubes de solution saline (NaCl 1 p. 100).

Technique de l'agglutination.

On ajoutait, pour 1 cent. cube d'émulsion : 1/100 (limite inférieure, que nous avons cru devoir adopter), 1/200, 1/500, 1/1.000, 1/2.000... de cent. cube de sérum (soit : 10^{-2}, $0,5.10^{-2}$, 2.10^{-3}, 10^{-3}, $0,5.10^{-3}$... cent. cube). Après mélange intime, les tubes, fermés au coton, demeuraient sur la table du laboratoire pendant 24 heures ; la lecture se faisait ensuite à l'œil nu (aidé de la loupe).

Nous avons trouvé intéressant de comparer entre eux, par des expériences croisées, les sérums, obtenus chez les chevaux et les lapins, avec : le bacille de Shiga et celui de Flexner

(échantillon Flexner-origine) — le bacille de Shiga et les germes suivants : A (paratyphique A) ; B, Π, P (paratyphiques B) ; T (typhique). Les sérums Flexner, A, B, Π, P, T ont été préparés, chez les chevaux, en injectant des bacilles alcool-éther simplement bouillis et, chez les lapins, en injectant des bacilles alcool-éther détoxiqués à la pipéridine (le détail des recherches sera publié ailleurs).

Notations employées dans le tableau qui résume les expériences.

Il nous a paru avantageux de remplacer les chiffres (sauf le signe 0) par des lettres, d'une lecture bien plus facile. Voici le sens de ces lettres :

(O = aggl. nulle avec 10^{-2} cent. cube de sérum).
a = aggl. incomplète (*mais très nette*) avec 10^{-2} cent. cube. de s.
A = aggl. complète avec 10^{-2}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-2}$.
B = aggl. complète avec $0,5.10^{-2}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-3}.
C = aggl. complète avec 2.10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 10^{-3}.
D = aggl. complète avec 10^{-3}, habituellement incomplète (rarement nulle) avec $0,5.10^{-3}$.
E = aggl. complète avec $0,5.10^{-3}$, habituellement incomplète (rarement nulle) avec 2.10^{-4}.
Et ainsi de suite...

Résultats des expériences.

Lecture du tableau.

On peut résumer, comme il suit, la lecture du tableau ci-joint. Notons que nos 8 échantillons de Shiga (Li, Ls, 1, 2, 3, Ad, D, S) offrent tous les caractères classiques, y compris le pouvoir toxigène.

Sérums de lapins.

S. normaux.

Etudiés comme témoins. — Action nulle sur les Shigas et sur A, B, Π, P, T. Agglutination faible avec Flexner (F).

S. Shiga-origine.

Action sur les Shigas. — L'éch. D. apparaît inagglutinable (et le demeure vis-à-vis de tous les sérums étudiés) ; ses émulsions sont instables et déposent rapidement. Les autres éch. offrent une agglutinabilité variable.

INDICATION des GERMES		SÉRUMS DE LAPINS									SÉRUMS DE CHEVAUX							
		NORMAL	SHIGA-ORIG.	DOPTER	FLEXNER-ORIG.	A	B	Π	P	T	NORMAL	SHIGA-ORIG.	FLEXNER-ORIG.	A	B	Π	P	T
Echantillons SHIGA	Li.	0	D	E	B	0	0	0	0	0	0	F	C	C	0	C	0	B
	Ls.	0	C	D	A	0	0	0	0	0	0	F	B	B	0	C	0	a
	1.	0	B	C	a	0	0	0	0	0	0	E	B	0	0	A	0	0
	2.	0	B	C	0	0	0	0	0	0	0	E	B	0	0	A	0	0
	3.	0	B	C	a	0	0	0	0	0	0	E	B	A	0	B	0	0
	Ad.	0	C	D	A	0	0	0	0	0	0	E	B	A	0	B	0	a
	D.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	S.	0	C	C	0	0	0	0	0	0	0	F	C	a	0	A	0	0
FLEXNER-orig.		A	B	B	D	—	—	—	—	—	B-C	J	G	—	—	—	—	—
	A.	0	A	—	—	A	—	—	—	—	0	a	—	H	—	—	—	—
	B.	0	0	—	—	—	C	—	—	—	0	A	—	—	H	—	—	—
	Π.	0	a	—	—	—	—	B	—	—	a	a	—	—	—	I	—	—
	P.	0	0	—	—	—	—	—	B	—	0	A	—	—	—	—	G	—
	T.	0	0	—	—	—	—	—	—	A	a	C	—	—	—	—	—	G

REMARQUES

SÉRUMS DES CHEVAUX

Flexner = saignée 14
Shiga = saignée 16
A = saignée 14
B = saignée 14
Π = saignée 15
P = saignée 13
T = saignée 15

CASES VIDES

(*c'est-à-dire remplies d'un trait*).

Dans ces cases, devraient se trouver des nombres sans rapport avec notre travail actuel. Aussi les a-t-on supprimés volontairement.

Action sur F. — Agglutinabilité égale à celle de certains Shigas; supérieure) mais de peu, à l'aggl. par le s. normal de lapin.

Action sur A, B, II, P, T. — A est faiblement aggl., II très peu.

S. Dopter.

Action sur les Shigas. — L'éch. D. reste inagglutinable; les autres (sauf 3 sont aggl. plus fortement que par le s. Shiga et dans le même ordre.

Action sur F. — Comme celle du sérum Shiga; ici l'agglutinabilité se montre inférieure à celle des Shigas (sauf D).

S. Flexner.

Action sur F. — Aggl. marquée.

Action sur les Shigas. — Aggl. le plus souvent nulle ou très faible. Parallélisme entre l'agglutinabilité par le s. F et l'agglutinabilité par le s. Shiga (sauf pour l'éch. S).

Sérums A, B, II, *P, T.*

Action sur les germes homologues. — Variable.

Action sur les Shigas. — Nulle.

Sérums de chevaux.

S. normaux.

Action nulle sur tous les Shigas; nulle ou très faible sur A, B, II, P, T; marquée sur F.

S. Shiga-origine.

Action sur les Shigas. — L'éch. D reste inagglutinable; les autres sont fortement aggl. (pas tout à fait dans le même ordre qu'avec le s. Shiga lapin).

Action sur F. — Agglutinabilité plus grande que celle des Shigas.

Action sur A, B, II, *P, T.* — Aggl. très faible avec A et II, variable avec les autres.

S. Flexner.

Action sur F. — Aggl. forte.

Action sur les Shigas. — D = O; les autres sont plus ou moins aggl. (à peu près dans le même ordre qu'avec le s. Shiga).

Sérums A, B, II, *P, T.*

Action sur les germes homologues. — Variable.

Action sur les Shigas. — Sérum A : certaine analogie avec le s. F lapin. — Sérums B et P = O. — Sérum II : sauf pour l'éch. Li, représente un sérum A plus fort. — Sérum T : sauf pour le même éch., représente un s. F lapin plus faible.

Conclusions.

Parallèle entre les sérums des lapins et ceux des chevaux.

[Les lapins ont été bien moins « poussés » que les chevaux; ne pas l'oublier.]

Sérums normaux.

Action nulle sur les Shigas; nulle ou très faible sur A, B, H, P, T; nette (lapin), marquée (cheval) sur F.

Sérums Shiga.

Action sur les Shigas. — L'éch. D, inagglutinable, se montre cependant très agglutinogène; les autres éch. sont aggl. par les s. de lap. et de chev., mais pas tout à fait dans le même ordre.

Action sur F. — Aggl. au moins égale (lap.), supérieure (chev.) à celle des Shigas.

Action sur A, B, H. P, T. — Sur A : aggl. nette (lap.) — presque nulle (chev.; malgré une immunisation beaucoup plus intense). Sur B, H, P : pratiquement nulle (lap.) — variable (chev.). Sur T : nulle (lap.) — assez marquée (chev.).

Sérums Flexner.

Action sur F. — Aggl. type.

Action sur les Shigas. — Nulle pour D; pour les autres éch., nulle ou très faible (lap.) — constante (chev.); en gros, parallélisme avec l'aggl. spécifique.

Sérums A, B, H, P, T.

Action sur les germes homologues. — Aggl. variable.

Action sur les Shigas. — Nulle avec les s. de lap. Avec les s. de chevaux : nulle pour D; pour les autres éch., *vide supra.*

Conséquences pratiques.

[Pour la *séro-identification* des germes.]

Un b. de Shiga peut être inagglutinable et demeurer fortement agglutinogène.

Les sérums Shiga, fournis par les lapins, se montrent « mieux spécifiques » que ceux qui proviennent des chevaux (fait déjà connu). Ces derniers, préparés soit avec les microbes alcool-éther, soit avec les microbes vivants, soit avec les extraits, influencent toujours plus le b. Flexner (origine) que le b. de Shiga.

Nous avons voulu voir ce que deviendrait le s. Shiga (« cheval alcool-éther ») après contact avec le b. de Flexner. Voici le résumé de deux expériences.

Sérum de la saignée 13. — Ce s = G pour le b. de Shiga et H pour le b. de Flexner. On ajoute, à 10 cent. cubes d'une dilution au 10[e], 5 centigrammes de b. de Flexner. On abandonne vingt-quatre heures dans la glacière. On passe sur terre d'infusoires et on titre le liquide clair qui s'écoule. Valeur : pour le b. Shiga F, pour le b. de Flexner G.

Sérum de la saignée 16. — Ce s = H pour le b. de Shiga et I pour le b. de Flexner. Même technique que précédemment, mais avec 10 centigrammes de

Flexner. Valeur du liquide clair: pour le b. de Shiga F, pour le b. de Flexner G.

Les deux agglutinines semblent donc absorbées par le b. de Flexner proportionnellement à la masse des germes fixateurs — rien de plus.

Nous pensons que les sérums d'origine équine demeurent malgré tout indiqués en matière d'identification, à cause de leur grande efficacité. On se rappellera seulement que les b. de Shiga ne sont agglutinés que par le seul sérum Shiga, tandis que le b. de Flexner (origine — nous n'avons pas actuellement de documents concernant les divers échantillons des types Flexner, Y et Strong) « répond » aux sérums Shiga et Flexner.

Conséquences théoriques.

On se contentera, ici, des quelques remarques suivantes.

Le b. Shiga-origine renferme les antigènes des autres Shigas (pour D, voir plus loin) et ceux de : F, A, B, H, P, T.

Le b. Flexner origine contient les antig. de tous les Shigas étudiés (pour D, *infra*).

Le b. A renferme les antig. de 5 Shigas et le b. T. de 3 seulement.

Le b. H possède les antig. de tous les Shigas étudiés (pour D., *infra*).

Les b. B et P ne semblent pas offrir d'antig. Shiga.

Le lapin, mieux que le cheval, met en évidence l'antig. A présent dans le b. Shiga origine.

Le b. Shiga-D contient les antig. de tous les Shigas étudiés et, évidemment, le sien propre ; mais, comme cet échantillon est « d'essence inagglutinable », on ne saurait deviner quels germes peuvent en recéler l'antig.

L'inagglutinabilité de D tient à son incapacité de fixer l'agglutinine — donc à un « état particulier » de ses composants spécifiques. Voici qui le démontre.

Le s. du cheval S, alors qu'il agglomère déjà bien l'échantillon S (limite = F) est dilué au 10ᵉ. On prend 20 cent. cubes de cette dilution et on en fait deux parts; dans la première, on émulsionne 10 centigrammes de S et, dans la seconde, 10 centigrammes de D. On abandonne vingt-quatre heures à la glacière, on passe sur terre d'infusoires et on titre le liquide clair qui s'écoule. Valeur, pour S, du « liquide S » : O — du « liquide D » : F. Conclusion : D ne fixe pas trace de l'agglutinine, S en fixe la totalité (ou tout au moins assez pour que l'agglomération n'ait pas lieu à 10^{-2}).

[*Nota.* — Nous appelons provisoirement antigène de tel ou tel microbe l'antigène *dominant*; on reviendra, plus tard et ailleurs, sur la question.]

Expériences de précipitation.

Des extraits de nos 8 Shigas ont été soumis à l'action du sérum équin S. — ou plutôt le contraire, puisqu'il s'agit de recherches sur les précipitines.

Pour 1 cent. cube de sérum, dilué au 10e, on ajoutait 10^{-1}, 0,5-10^{-1}, 10^{-2} cent. cube d'extrait. Voici ce que nous avons observé :

Limite de précipitation (vingt-quatre heures; température ordinaire) :

10^{-2}, avec les éch. : S et Ad.

2.10^{-2}, avec les éch. : Li, Ls, 1, 2, 3.

Rien à 10^{-1}, avec l'éch. D.

(Rien à 10^{-1}, avec les divers éch. et le s. équin normal dilué au 10e.)

Ces expériences, peu nombreuses, comportent cependant quelque intérêt; elles montrent, notamment, que la substance de D demeure imprécipitable, comme elle était inagglutinable.

PRÉPARATION ET CARACTÈRES DE L'ANTITOXINE SPÉCIFIQUE

Les auteurs obtiennent le sérum antitoxique en injectant aux chevaux, isolément ou conjointement : des germes vivants, des germes morts, des extraits microbiens, des filtrats de cultures liquides. Les injections sont faites soit sous la peau, soit dans les veines, soit enfin sous la peau puis dans les veines. Les pertes demeurent élevées (surtout quand on emploie la voie intravasculaire) et le traitement dure toujours longtemps.

Pour titrer le sérum, on ne peut s'adresser qu'au lapin. Une bonne antitoxine doit neutraliser plusieurs doses mortelles, par mélange, sous le volume de 10^{-1} cent. cube. La méthode courante consiste à porter ce mélange dans les vaisseaux de l'oreille.

Préparation de l'antitoxine.

Après réflexion, nous avons immunisé un cheval, sous la peau, avec les extraits précédemment décrits, mais deux fois plus faibles (0,5 gr. de poudre, pour 20 cent. cubes d'eau distillée). L'observation détaillée sera rapportée ailleurs. Disons simplement que l'animal n'a offert rien d'anormal, ni localement, ni du côté de l'état général et que son sérum s'est montré fort efficace, ainsi qu'on va le voir.

Caractères de l'antitoxine.

ACTION SUR LE POISON.

Par mélange.

[1/2 heure de contact; température ordinaire.] — Le sérum, obtenu après deux mois de traitement (*on aurait pu aller bien*

plus vite), alors que le cheval avait reçu 919 cent. cubes d'extrait, neutralise, sous le volume de $0,5.10^{-1}$ cent. cube, la quantité de poison qui tue habituellement en une douzaine d'heures, dans la veine — quantité abandonnée par 2 centigrammes de germes, pour l'échantillon Ls. Etant données les différences de sensibilité individuelle observées chez les lapins, on ne peut caractériser exactement cette dose; elle est susceptible d'amener la mort de 5-10 sujets.

$0,5.10^{-1}$ cent. cube de sérum neutralise non seulement la toxine employée dans l'immunisation du cheval (toxine Ls), mais encore 7 autres « poisons-Shiga », injectés (en mélange) à doses équinocives. — 2.10^{-2} cent. cube de sérum permettent habituellement d'empêcher l'intoxication d'un lapin sur deux, quelle que soit la toxine choisie.

Après moins de six semaines de traitement (l'animal ayant reçu 319 cent. cubes d'extrait), le sérum était actif sous le volume de 2.10^{-1} cent. cube. Après moins de sept semaines (l'animal ayant reçu 619 cent. cubes d'extrait), il était efficace sous le volume de 10^{-1} cent. cube.

Le mélange de plusieurs sérums, préparés par un de nos collègues avec des germes vivants (injections intraveineuses), ne protégeait que la moitié des lapins à 10^{-1} cent. cube. Notre méthode d'immunisation ayant été substituée au procédé jusqu'alors suivi, les résultats sont devenus satisfaisants.

Préventivement.

[La veille, dans les muscles gastrocnémiens.] — Un volume 10 fois plus grand de sérum (0,5 cent. cube) rend inoffensive l'injection intraveineuse de poison (dose toujours la même).

Action sur les germes vivants.

Nous avons vu que ceux-ci n'abandonnent, par macération, qu'environ la moitié de leur contenu toxique. Puisque $0,5.10^{-1}$ cent. cube de sérum neutralise (mélange) la quantité cédée par 2 centigrammes de l'échantillon Ls, on pouvait admettre, théoriquement, que cette dose neutralisait 1 centigramme de bacilles vivants dans la veine et que 5 fois cette dose neu-

traliseraient 5 centigrammes de bacilles vivants sous la peau. Les expériences ont vérifié nos prévisions, quelque peu osées, il faut l'avouer. Elles ont montré, d'autre part, que le sérum jouit d'un pouvoir préventif très marqué vis-à-vis des germes vivants, introduits dans les veines ou sous la peau.

Notre sérum antitoxique demeure médiocrement agglutinant (D pour le Shiga-origine et E pour le Flexner-origine). Inversement, notre sérum agglutinant, alors qu'il possédait les caractéristiques H (Shiga-origine) et J (Flexner-origine), ne protégeait qu'un lapin sur deux, sous le volume de 10^{-1} cent. cube. On s'adressera donc aux microbes eux-mêmes (et, commodément, aux « microbes alcool-éther »), quand il s'agira d'obtenir un sérum agglutinant et à leurs extraits (mieux encore peut-être à leurs filtrats), quand il s'agira de préparer une bonne antitoxine.

VUE D'ENSEMBLE SUR LE BACILLE DE SHIGA

[D'APRÈS LES RECHERCHES DES AUTEURS ET LES NOTRES.]

Organisme immobile, qui se décolore par la méthode de Gram et dont les cultures dégagent un parfum de fleurs de marronnier assez spécial.

Les colonies sur gélose rappellent celles du bacille d'Eberth, bien que plus riches. De même, pour les développements en bouillon. Lorsque le milieu reste modérément alcalin (tournesol), on peut observer la formation d'une collerette au niveau de la surface libre du liquide; lorsqu'il devient neutre à la phénolphtaléine, on voit se développer, chez les mêmes individus, un voile véritable, atteignant son maximum après 5-10 jours et pouvant renaître plusieurs fois quand on le fait tomber (l'échantillon D, exceptionnel, pousse d'emblée en profondeur, laissant le bouillon clair). Sur pomme de terre, dépôt léger de nuance écrue. Pas de liquéfaction de la gélatine.

Le bacille de Shiga se comporte comme celui d'Eberth dans les milieux suivants : petit-lait, bouillon glucosé, gélose glucosée au rouge neutre, gélose lactosée tournesolée. Il rougit fortement la gélose glucosée tonrnesolée, mais ne fermente ni la mannite, ni le maltose, ni le saccharose. Il ne produit point

d'indol et ne noircit pas la gélose au plomb. Enfin, il offre une tendance particulière à s'autolyser (M. Nicolle et Salimbeni).

Pratiquement, le bacille de Shiga doit être considéré comme avirulent, mais c'est un germe très toxigène. Son poison détermine, chez le lapin, des symptômes et lésions caractéristiques (émaciation, paralysie du train antérieur, diarrhée, état comateux parfois très prolongé — typhlite véritablement spécifique). Ce poison résiste assez bien à la chaleur et encore mieux à l'acidité (expériences de Dörr, répétées par nous).

Rien n'est donc plus facile que de reconnaître un bacille de Shiga toxigène. Nous n'en avons jamais rencontré d'autres. Dans le cas où l'éventualité opposée se produirait, il faudrait s'efforcer de faire réapparaître la fonction éclipsée (cultures répétées, avec milieux favorables) ou de la dépister chez les quelques individus privilégiés qui la détiennent peut-être encore (examen de nombreuses colonies d'isolement). Si l'on échoue, de quel secours sera l'étude de l'agglutinabilité et du pouvoir agglutinogène? Un spécimen, agglutiné par le seul sérum Shiga et agglutinogène pour le bacille de Shiga et le bacille de Flexner (origine) devra être considéré comme bacille de Shiga. Un spécimen, inagglutinable, mais agglutinogène pour le bacille de Shiga et le bacille de Flexner (origine), également. On s'assurera, bien entendu, par comparaison avec des individus typiques, que ces spécimens (hypothétiques) en offrent tous les caractères essentiels.

On obtient, aisément, un excellent sérum antitoxique, chez le cheval, quand on injecte sous la peau des extraits microbiens. Ce sérum constitue l'antidote spécifique (et, partant, le réactif spécifique) de la « toxine-Shiga ».

SUR L'ÉTIOLOGIE DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU CHEVAL

par CARRÉ et VALLÉE.

De longues et minutieuses études, poursuivies après tant d'autres auteurs, nous ont permis, il y a douze ans déjà, de préciser les points essentiels de l'histoire de l'anémie infectieuse du cheval (1).

Voici sommairement résumés les résultats principaux de nos recherches :

1° L'anémie pernicieuse du cheval est une maladie infectieuse, inoculable, due à un virus filtrant ultra-microscopique ;

2° Le sang et les urines des malades sont virulents ;

3° Le virus est détruit par le chauffage à 60° ;

4° L'infection s'obtient, notamment par les voies digestives, à la faveur des urines ;

5° Les chevaux guéris en apparence, demeurent, en réalité, infectés et répandent la contagion autour d'eux.

Ces notions essentielles ont été partout confirmées. Reconnues exactes, tout d'abord, par Ostertag en Allemagne (2), par Marek en Hongrie (3), par Francis et Marsteller au Texas (4), par Mack au Nevada (5), par Mohler à Washington (6), par Van Es au North Dakota (7), par Told et Wolbach (8) dans le Nord-

(1) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1904 et 1905 et Recherches cliniques et expérimentales sur l'Anémie infectieuse du cheval (typho-anémie infectieuse), *Revue générale de Médecine vétérinaire*, 1906, n° 95, et 1907, n° 99.

(2) Ostertag, *Zeitschrift f. Infectionskrankheiten der Haustiere*, t. III, 1908.

(3) Hutyra et Marek, *Spez. Patholol. und Therap. der Haustiere*, 1913.

(4) Francis et Marsteller, Infectious Anæmia of the Horse. *Texas Agricul. Station*. Bulletin 119, décembre 1908.

(5) Mack, Equina Anæmia investigations in Nevada. *Report of the Fourteenth Animal Meeting of the Live Stock Sanita. Association*, 1910, p. 137.

(6) J. R. Mohler. Infectious Anæmia or Swamp-Fever of horses. Circul. du *Bureau of Animal Industry*, 6 mars 1909.

(7) Van Es, Hawis et Schalk, Swamp-Fever in Horses, *North Dakota Agricult. Experi. Station*, Bulletin 94, septembre 1911.

(8) Told et Wolbach, The Swamp-Fever of Horses. *The Journal of Med. Research*, t. XXIV, p. 213, 1911.

Amérique, etc., elles ont fait récemment l'objet des recherches d'une Commission japonaise qui, durant quatre années d'expériences, expérimenta sur 980 chevaux (1). Nos travaux, ici encore, reçoivent une consécration complète tandis que quelques points nouveaux de la maladie se trouvent précisés.

Une aussi large confirmation de nos constatations premières met celles-ci à l'abri de toute critique sérieuse. Nous n'aurions donc jamais pensé faire état de ces suffrages si divers périodiques n'avaient produit sans critique aucun des travaux de K. R. Seyderhelm et R. Seyderhelm (2), dont les conclusions nous apparaissent à la fois contraires à la vérité scientifique et nuisibles au succès d'une saine et féconde prophylaxie de l'infection qui nous occupe.

Pour MM. Seyderhelm, l'anémie pernicieuse n'est point déterminée par un virus ultramicroscopique, mais par un poison, l'œstrine, contenu dans les Œstres du cheval (*Gastrophilus equi* et principalement *G. hemorrhoïdalis*).

Cette conclusion catégorique se fonde sur ce point que l'injection au cheval des extraits aqueux des larves précitées détermine chez cette espèce des accidents aigus mortels ou des troubles chroniques à marche progressive, anémiante, et fébrile.

Nous n'avons pu, en diverses expériences, mettre en évidence à notre tour cette intéressante propriété des Œstres recueillies, à l'exemple des auteurs précités, soit sur des chevaux sains, soit sur des chevaux anémiques. La Commission japonaise, qui comprenait en son sein des entomologistes distingués, n'a d'ailleurs point été plus heureuse que nous.

Sans être parasitologistes, nous sommes cependant assez avertis des troubles généraux déterminés chez les animaux par les divers états vermineux, pour admettre sans réserve qu'on puisse attribuer aux multiples parasites du tube digestif nombre d'états anémiques. Les cachexies aqueuses sont de trop nets exemples du rôle des endoparasites pour qu'on épilogue sur leur étiologie!

Nous admettons aussi sans plus discuter que l'anémie dite

(1) The Horse administration Bureau. Tokio, 1914. Brochure.

(2) K. R. et R. SEYDERHELM, Die Ursache der perniziösen Anämie der Pferde. *Archiv für exper. Pathologie u. Pharmakologie*, 1914 t. LXXVI, p. 149-201.

pernicieuse du cheval ne représente point une seule entité morbide et qu'il est, chez cette espèce, des syndromes anémiques, d'essences diverses.

Avec M. Ries, avec MM. Seyderhelm, nous pensons donc volontiers qu'il existe chez le cheval des anémies vermineuses soit gastrophiliques, soit strongylaires.

Mais nous nous refusons à admettre l'*unicité* de l'anémie pernicieuse du cheval et la seule étiologie vermineuse de cette maladie et nous tenons pour démontré, à la faveur de nos travaux et des multiples confirmations qu'ils ont reçues de tous côtés, *qu'il existe chez cette espèce une anémie infectieuse de nature microbienne inoculable, due à un virus filtrant.*

Voici quelques faits à l'appui de cette affirmation sans réserves. Ils ne laissent place ni au doute, ni à l'interprétation :

1° La quasi-totalité des chevaux anémiques reçus par nous et entretenus au laboratoire ne portait ni Œstres, ni anévrismes vermineux. Tandis que l'aire géographique de l'anémie infectieuse est limitée, Œstres et Strongles se retrouvent en abondance chez d'innombrables chevaux en état de santé et en des régions ou l'anémie infectieuse n'a jamais sévi et ne s'observe point encore ;

2° Le « poison » des Œstres découvert par MM. K. R. et R. Seyderhelm *résiste au chauffage à l'autoclave* pendant une heure trente et trois heures; la température de chauffe n'est point indiquée par les auteurs : elle ne saurait, l'autoclave étant utilisé, être inférieure à 100°. Il n'est point altéré non plus par l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme, le *trichlorure d'iode*. Il conserve malgré ces interventions son pouvoir toxique et anémiant (K. R. et R. Seyderhelm).

Si stupéfiante que paraisse cette constatation, si contraire à tout ce que l'on sait des poisons organiques, nous ne la discuterons même pas et la tenons pour acquise devant notre critique.

Peu importe en effet : le virus de l'anémie infectieuse, nous l'avons prouvé, perd toute qualité infectante ou pathogène par le simple chauffage à 60°. Ostertag, Marek, divers auteurs, la Commission japonaise l'ont constaté comme nous, et le virus est également sensible à tous les antiseptiques.

Cette seule notion suffirait, s'il en était besoin, à prouver l'absolue *dualité* de la maladie partout identifiée après nous et

à la différencier de l'état morbide expérimentalement provoqué par les extraits d'Œstres.

3° L'anémie infectieuse est transmissible à volonté par la seule inoculation du sang des malades, sans le secours des Œstres, ni de l'œstrine. Dans nos recherches, un même virus nous a permis de réaliser cinq passages successifs de l'infection de cheval à cheval.

Si l'on peut admettre que l'œstrine à elle seule est susceptible de déterminer un premier cas d'anémie, l'on ne peut considérer, si elle est seule en cause, que la maladie qu'elle détermine *soit transmissible en série*. Il n'a jamais été démontré, à notre connaissance, qu'une *intoxication*, fût-elle de nature vermineuse, soit inoculable de la sorte! Pour qui n'abandonne point la critique et étudie selon les règles — tracées par Claude Bernard et Pasteur — d'une saine expérimentation, *toute maladie reproduite en série procède d'un germe revivifiable dans l'organisme*. C'est le cas de l'anémie que nous avons étudiée.

Si l'œstrine est pathogène pour un premier cheval, et si une petite quantité du sang de celui-ci est capable de reproduire la maladie chez un second animal ou un troisième de même espèce, c'est qu'elle *cultive*, se reproduit dans l'organisme du malade. Elle ne représente dès lors plus un *poison*, mais l'un de ces virus que quarante années de travaux rigoureux nous ont appris à connaître et à identifier!

MM. K. R. et R. Seyderhelm ne se méprennent pas au reste sur ce point; aussi font-ils à leur conscience l'aumône d'une hypothèse!

« L'œstrine, écrivent-ils, met sans doute en liberté un organisme ultra-visible qui reste dans le corps du cheval, inactif jusqu'à ce que ce poison lui donne la faculté de se propager et la virulence. »

Nous ne nions ni l'originalité, ni la facilité d'une aussi libre conception; mais nous préférons à toute suggestion l'expérimentation bien conduite ou l'observation rigoureuse, s'il faut se contenter de celle-ci; et si MM. K. R. et R. Seyderhelm nous donnent un jour la démonstration du bien-fondé de leur hypothèse, nous applaudirons à l'une des plus jolies conquêtes qui aient vu jour depuis les géniales découvertes de Pasteur!

Mais constatons d'emblée que MM. K. R. et R. Seyderhelm — par un assez tortueux détour — reviennent à admettre la nature virulente intime de l'anémie infectieuse..... dont nous avons démontré l'existence et aujourd'hui identifiée de tous côtés.

Un point d'importance plus réelle mérite d'être examiné ici, sur lequel nous n'avons point eu encore l'occasion favorable de nous étendre : *l'anémie infectieuse telle que nous l'avons décrite est-elle transmissible par des insectes*?

Nous l'admettons très volontiers... en principe. Le rôle des insectes piqueurs n'est-il pas largement établi dans l'étiologie d'un grand nombre d'infections humaines et animales? Il apparaît d'autant plus vraisemblable que dans l'anémie infectieuse le sang des malades est constamment virulent et que l'infection — en certaines régions au moins — est plus particulièrement fréquente chez les animaux entretenus au pâturage.

Dès 1906, M. Ries émettait en l'espèce l'hypothèse du rôle des gastrophiles (1). Il insiste aujourd'hui sur cette notion. Soucieux de ne retenir que des faits démontrés, nous avons cependant écrit, quelques jours après lui, que ses constatations sur le rôle des Gastrophiles et des Insectes dans la genèse ou la propagation de la maladie étaient dénuées de toute valeur probante. Rien ne nous autorise à modifier cette opinion, ni l'insuccès de nos propres tentatives, ni celui des essais de la Commission japonaise, auxquels nous avons fait plus haut allusion.

Ni les Tiques, ni les Simulies, ni les Taons n'ont pu, entre les mains de cette dernière, transmettre l'infection. Même échec est enregistré par inoculation au cheval du produit de broyage des Gastrophiles recueillis sur des animaux morts de la maladie.

Sans rien nier donc de la légitimité de l'hypothèse du rôle vecteur des insectes, ni de la valeur des constatations de K. R. et R. Seyderhelm, nous ne pouvons que conclure à la nécessité de recourir à de nouvelles expériences avant que de conclure définitivement sur ce point d'étiologie du plus haut intérêt.

(1) *Recueil de Médecine vétérinaire*, 1906, p. 677.

A l'heure où notre pays reçoit de l'étranger et de régions profondément infectées d'anémie de très nombreux chevaux, il nous paraît utile de rappeler encore — ce sera notre conclusion — quelques-uns des points les mieux établis de l'étiologie et du diagnostic d'une infection particulièrement insidieuse :

1° La maladie est transmissible par les voies digestives. Le sang et les urines des malades sont virulents. Celles-ci, partout où l'abreuvement se fait en des mares souillées de purin, parmi d'autres causes d'infection, représentent une source permanente de contage, le virus de l'anémie résistant durant de longs mois à la dessiccation et à la putréfaction.

2° Au cours de son évolution chronique, l'anémie présente des paroxysmes caractérisés par de violentes poussées fébriles, de l'ictère hémaphéique, de l'hémoglobinurie ; le sang, en hypoglobulie, est peu coagulable ; les hématies s'agglutinent et le sérum est fortement teinté et dichroïque. Dans l'intervalle des crises, la maladie n'est décelable que par l'examen des urines toujours albumineuses, par l'épreuve cardiaque et, accessoirement, par l'examen de la muqueuse oculaire qui apparaît « grasse », pâle et infiltrée. A l'autopsie on note de la splénomégalie, un gros foie « cardiaque », de l'endocardite et une vive réaction hémopoiétique de la moelle des os longs.

3° Les sujets guéris en apparence demeurent infectants durant des mois et des années. Quelque succès apparent que l'on obtienne de divers modes de traitement, la guérison réelle — caractérisée seulement par la non-virulence du sang — est problématique.

4° La séparation, la surveillance des malades, la désinfection des déjections, la protection des eaux de boisson sont impérieusement indiquées. L'abatage des malades et la destruction de leurs cadavres représentent des mesures de prophylaxie indispensables en campagne surtout.

5° Tous essais de vaccination ou de sérothérapie demeurent vains jusqu'ici.

ESSAI DE DESTRUCTION
DU *SCHISTOCERCA PEREGRINA* AU MAROC
PAR
LE « COCCOBACILLUS ACRIDIORUM » DU D[r] D'HÉRELLE

par

H. VELU

Vétérinaire A. M. de 1[re] classe,
Chef du Laboratoire de Recherches.

A. BOUIN

Vétérinaire A. M. de 1[re] classe,
Inspecteur du Service zootechnique.

(Travail du Laboratoire de Recherches de Casablanca.)

Comme l'Algérie et la Tunisie, le Maroc a, de tout temps, à des intervalles plus ou moins longs, été ravagé par les invasions de Sauterelles. Bien qu'aucune statistique n'ait été faite en vue d'évaluer les dégâts causés aux récoltes par les acridiens migrateurs, il est nettement établi que ces ravages ont été parfois considérables. Les habitants du Maroc ont conservé le souvenir de l'invasion formidable qui eut lieu, il y a une cinquantaine d'années, lors de la prise de Tetouan. Mais bien avant, les invasions d'acridiens avaient déjà frappé les imaginations.

En 1833, Hemso, consul de Suisse à Tanger, écrivait : « Il n'est pas possible de parler de l'Agriculture marocaine, sans faire mention du plus terrible fléau auquel elle est exposée..., je veux parler des Sauterelles que les Maures nomment Djerad. »

Quelques années avant lui, de Chénier, qui résidait au Maroc, en 1778, avait tracé de ces calamités un tableau impressionnant : « Dans l'été de l'année 1778, on vit venir du côté du sud, des nuages de sauterelles qui obscurcissaient le soleil et qui ravagèrent une partie des moissons; les germes qu'elles laissèrent sur la terre firent de plus grands dégâts encore... la campagne en fut entièrement couverte et elles rampaient les unes sur les autres pour courir après leur subsistance. Il a déjà été observé que ce sont les jeunes qui font le plus de

mal; il semble même impossible de pouvoir se délivrer du ravage de ces insectes, quand une fois la campagne en est affligée; pour en garantir les jardins et les maisons, dans le voisinage des villes, on fait un fossé de deux pieds de profondeur et autant de large ; on palissade de roseaux, fort près l'un de l'autre et inclinés du côté du fossé, les terrains que l'on veut garantir, et ces insectes, ne pouvant grimper sur le luisant du roseau, retombent dans le fossé où ils se dévorent entre eux. C'est par ce moyen que les jardins, les vignes de Rabat, et la ville elle-même, furent délivrés de ce fléau en 1799. Ce retranchement, qui avait au moins une lieue de long, formait un demi-cercle, depuis la mer jusqu'à la rivière qui sépare cette ville de celle de Salé; il s'y rassembla une quantité si prodigieuse de jeunes sauterelles qu'au troisième jour, on ne pouvait s'en approcher à cause de la corruption. Tout fut dévoré dans la campagne. L'écorce des figuiers, des grenadiers et des orangers âpres, dure et corrosive, ne put échapper à la voracité de ces insectes. Les terres ravagées dans toutes les provinces ne produisirent aucune moisson, et les Maures, réduits à vivre de leurs économies, que l'extraction des bleds jusqu'en 1774, avait absorbées, éprouvèrent quelque besoin; les bestiaux, pour lesquels on ne fait aucun approvisionnement et qui n'ont d'autre subsistance, dans ces climats, que l'herbe qu'ils pâturent journellement à la campagne, moururent de faim, et l'on ne put conserver que ceux qui étaient dans le voisinage des montagnes ou des terres marécageuses, où les pâturages renaissaient avec plus de facilité. Dans cette situation extrême, les peuples éprouvèrent toutes les horreurs de la famine ; on les voyait errer dans les campagnes pour dévorer des racines, et, cherchant dans les entrailles de la terre des moyens de conserver leurs jours, ils les abrégeaient peut-être. Il mourut un monde infini, de misère et de mauvaise nourriture...

« Dans l'état de calamité où se trouvait cet Empire, on ne pouvait voir qu'avec étonnement et respect, la résignation de ces malheureux à la Providence; ils supportaient le mal sans se plaindre, parce que, selon leur foi, tout a été préparé par les décrets de la Providence... »

On comprend, après la lecture de ce récit, l'importance des

invasions de sauterelles au Maroc, et tout l'intérêt qu'offre la lutte à engager pour enrayer et prévenir par des moyens radicaux l'arrivée et le retour de semblables calamités. Avant d'adopter la méthode des cultures microbiennes, préconisée depuis quelques années, il convenait de réaliser un premier essai destiné à démontrer si les conditions mésologiques propres au Maroc entravaient ou favorisaient la création, puis l'extension et la diffusion des épizooties à coccobacille et se prêtaient à l'application du procédé imaginé par le Dr d'Hérelle.

Nous avons cherché à nous rapprocher le plus possible des conditions naturelles de la pratique. Indépendamment des expériences préliminaires faites, soit au laboratoire, soit en champ clos, soit en plein champ, sur des taches de peu d'étendue, nous avons réalisé un vaste essai sur une surface de près de 1.500 kilomètres carrés. Nous avons choisi, pour cela, à 80 kilomètres de Casablanca, une zone à peu près inculte, dépourvue de voies de communication. Les criquets y étaient extrêmement nombreux et formaient des colonnes de plusieurs dizaines de kilomètres de front, d'âge différent se déplaçant avec des vitesses variables. Pour en réaliser la contamination, il aurait fallu employer des quantités formidables de bouillon. Nous ne disposions ni du matériel nécessaire à sa fabrication, ni du personnel suffisant pour effectuer les pulvérisations. C'est pourquoi nous avons été rapidement amenés à étudier les moyens naturels d'intercontamination, et pourquoi nous nous en sommes servis pour rendre l'épizootie très contagieuse et lui donner rapidement une très grande extension. Pour éviter des erreurs considérables dans l'appréciation des résultats, du fait du mélange des nombreuses taches nées dans la région ou venues des Doukhala, les bandes de criquets ont été observées très régulièrement, depuis le moment de l'infestation, c'est-à-dire depuis le courant de mai, jusqu'au départ des vols de sauterelles, c'est-à-dire en fin juin, commencement de juillet. Cette observation incessante et très sérieuse a permis de suivre, presque au jour le jour, la marche de la maladie dans toute la zone infectée et d'étudier les variations de la morbidité et de la mortalité. Des inoculations de contrôle ont été faites chaque fois qu'il a été nécessaire de

vérifier les atténuations de la virulence déjà décelées par l'examen de la mortalité.



Abondance des criquets dans les lieux de ponte des Ouleds Saïd.

Ils recouvrent les rochers presque entièrement. On ne les distingue pas dans l'herbe, où cependant ils sont tout aussi nombreux.

Ce laborieux travail nous a permis de recueillir une ample moisson de faits intéressants qui nous ont fixés sur les conditions d'application de la méthode au Maroc; les résultats

obtenus nous semblent d'autant plus probants qu'ils ont porté, rappelons-le, sur près de 1.500 kilomètres carrés.



Voracité des criquets : l' « Acriodiophagie ».
Malgré la petite taille des sujets représentés sur cette photographie, on peut distinguer et reconnaître les scènes de carnage dont nous avons été témoins.

Nous tenons à remercier ici MM. le capitaine Maitrat et le capitaine Lapasset, dont l'amicale et compétente collaboration nous a été d'un grand prix dans cette tâche particulièrement

pénible et difficile, et le lieutenant de Latour qui a bien voulu s'intéresser à nos travaux et mettre gracieusement à notre disposition les hommes dont nous avions besoin.

Cette expérimentation, bien surveillée, nous a permis d'étudier, pour essayer de les élucider, les questions suivantes, que nous allons exposer avec quelques détails :

1° Les variations de la virulence du coccobacille ;

2° La contamination ;

3° Évolution des épizooties restreintes (expériences préliminaires au laboratoire, en champ clos, en plein champ sur des taches peu étendues) ;

4° Marche des épizooties en plein champ.

1° Variations de la virulence du coccobacille.

Nous nous sommes servis pour nos expériences d'une souche très virulente qui nous avait été fournie par le Dr Sergent. Les premières inoculations furent faites sur de jeunes criquets de 12 à 15 jours, avec du bouillon âgé de 36 heures. Les passages ont été faits suivant la méthode pastorienne de criquet à criquet. Par la suite, chaque fois que nous avons été obligés d'interrompre les séries, nous en avons recommencé une nouvelle avec le bouillon ensemencé avec du coccobacille isolé du dernier passage de la série précédente. Cette méthode avait le double avantage de nous permettre d'interrompre momentanément les passages et de vérifier la virulence du bouillon pulvérisé. Les isolements ont été faits à partir du suc musculaire de la patte. Au début, nous avons employé du bouillon ordinaire ; mais comme, par les soirées humides, il se diluait trop facilement, dans la rosée provenant de la condensation nocturne considérable au Maroc, nous avons porté à 3 puis à 5 grammes le taux de la gélatine.

Les tableaux suivants indiquent la virulence obtenue par les passages et la virulence des bouillons pulvérisés.

DATES	PASSAGE	DILUTION	HEURES de L'INJECTION	DURÉE MOYENNE de LA MALADIE	OBSERVATIONS
			Série A.		
1er mai	1er	Pur.	19 heures	18 heures	Bouillon de 36 heures.
2 —	2e	1/10	13 —	13 —	
3 —	3e	1/10	7 —	8 h. 1/2	
— —	4e	1/10	16 —	14 heures	
4 —	5e	1/10	6 h. 1/2	6 —	
— —	6e	1/10	13 heures	4 —	
— —	7e	1/10	18 —	8 —	
5 —	8e	1/10	8 h. 1/2	4 h. 1/2	
— —	9e	1/10	17 heures	5 heures	Isolement à partir des premiers criquets morts en 3 heures et demie.
			Série B.		
13 mai	1er	Pur.	7 h. 1/2	8 h. 2/3	Bouillon de 5 jours 1/2 provenant de A. 9.
— —	2e	1/2	17 h. 1/2	12 h. 3/4	
14 —	3e	1/2	7 h. 1/2	7 heures	
— —	4e	1/3	18 h. 1/2	9 —	
15 —	5e	1/4	1 heure	10 heures	
— —	6e	1/4	12 h. 1/2	4 h. 3/4	
— —	7e	1/5	18 h. 3/4	5 h. 1/2	
16 —	8e	1/5	0 h. 3/4	8 h. 3/4	
— —	9e	1/4	13 h. 1/4	7 heures	
— —	10e	1/5	22 heures	7 —	
17 —	11e	1/6	8 —	5 —	
— —	12e	1/7	14 h. 1/2	6 —	
— —	13e	1/8	22 heures	9 h. 1/4	
18 —	14e	1/8	13 h. 1/2	3 h. 1/2	
— —	15e	1/9	22 heures	12 h. 1/2	
19 —	16e	1/9	14 —	5 heures	
— —	17e	1/10	23 —	12 h. 1/4	
20 —	18e	1/10	13 h. 1/2	4 heures	
— —	19e	1/10	22 heures	9 h. 3/4	
21 —	20e	1/10	13 —	4 h. 3/4	
— —	21e	1/10	18 h. 1/2	9 heures	
22 —	22e	1/10	6 h 1/2	4 h. 1/2	
— —	23e	1/10	13 heures	3 h. 1/2	
— —	24e	1/10	21 h. 1/2	8 heures	
23 —	25e	1/10	6 h. 1/2	4 h. 1/2	
— —	26e	1/10	13 h. 1/2	3 heures	
— —	27e	1/10	21 heures	8 —	
24 —	28e	1/10	7 h. 1/2	5 h. 1/2	
— —	29e	1/10	14 h. 1/2	3 heures	
— —	30e	1/10	22 h. 1/2	8 —	
25 —	31e	1/10	7 h. 1/2	4 —	
— —	32e	1/10	13 h. 1/2	14 —	Criquets âgés.
26 —	33e	1/6	7 h. 1/2	3 h. 1/2	
— —	34e	1/6	16 h. 1/2	6 heures	
— —	35e	1/6	22 heures	10 —	
27 —	36e	1/6	7 —	6 —	
— —	37e	1/7	13 —	4 —	
— —	38e	1/7	18 h. 1/2	7 —	
28 —	39e	1/7	0 h. 3/4	9 —	
— —	40e	1/8	10 h. 1/2	4 —	
— —	41e	1/9	14 h. 1/2	4 —	
— —	42e	1/10	22 heures	8 h. 1/2	

28

DATES	PASSAGE	DILUTION	HEURES de L'INJECTION	DURÉE MOYENNE de LA MALADIE	OBSERVATIONS
29 mai	43e	1/10	7 h. 1/2	5 h. 2/3	
— —	44e	1/10	14 heures	5 heures	
— —	45e	1/10	19 h. 1/2	7 —	
30 —	46e	1/10	1 h. 1/2	8 —	
— —	47e	1/10	13 heures	4 h. 1/4	Isolement à partir des premiers criquets morts en 4 heures.
			Série C.		
5 juin	1er	Pur.	10 heures	9 heures	Bouillon âgé de 3 jours provenant de C. 47. Isolement à partir des premiers criquets morts en 4 h. 1/2.
— —	2e	1/10	23 h. 1/2	9 —	
6 —	3e	1/10	9 heures	6 —	
— —	4e	1/10	16 h. 1/2	4 h. 1/2	
			Série D.		
12 juin	1re	Pur	23 heures	7 h. 1/2	Bouillon âgé de 2 jours provenant de C. 4.
13 —	2e	1/10	8 —	7 h. 1/2	
— —	3e	1/10	16 —	7 h. 1/2	
— —	4e	1/10	22 —	?	
14 —	5e	1/10	13 —	6 h. 1/2	
— —	6e	1/10	18 h. 3/4	6 heures	Isolement à partir des premiers criquets morts en 5 h. 1/4.
			Série E.		
19 juin	1er	Pur.	5 heures	7 h. 1/2	Bouillon âgé de 3 jours provenant de D. 6.
— —	2e	Pur.	10 —	4 h. 1/2	
— —	3e	1/2	15 —	3 h. 1/4	
— —	4e	1/3	18 h. 1/2	3 h. 1/2	
20 —	5e	1/4	5 h. 1/2	5 heures	
— —	6e	1/5	11 heures	3 —	
— —	7e	1/6	15 h. 1/2	3 —	
— —	8e	1/8	19 heures	?	
21 —	9e	1/9	4 —	6 heures	
— —	10e	1/10	9 h. 1/2	5 h. 1/2	
— —	11e	1/10	15 heures	4 heures	Isolement à partir des premiers criquets morts en 3 h. 1/2.

Si l'on examine le tableau des passages, on est frappé par les variations considérables de la durée de la maladie. Nous les avons tout d'abord attribuées à des fautes de technique, mais nous avons bien vite constaté qu'elles étaient soumises aux variations diurnes très accusées de la température ; nous opérions en plein bled, sous une tente où le refroidissement nocturne se faisait sentir d'une façon intense. Pendant les

Virulence des bouillons pulvérisés.

DATE de l'isolement DU COCCOBACILLE	DATE de l'ensemencement DES BOUILLONS	DATE de la PULVÉRISATION	LIEU DE LA PULVÉRISATION	VIRULENCE du BOUILLON	RÉSULTATS OBTENUS
5 mai.	7 mai.	8 mai.	Meçhra-bou-Kechba (Oum-er-Rebia).	4 h. 1/4	Très bons résultats.
30 mai.	31 mai.	2 juin.	El-Khremise . . . . El-Arba. Sidi bou-Tlane. Settat.	4 h. 1/2	Très bons résultats.
30 mai.	1er juin.	2 juin.	Mechra-bou-Kechba . . . . Mechra. Safsafe.	4 h. 1/2	Assez bons résultats.
30 mai.	31 mai.	4 juin.	Bou-Laouane.	4 h. 1/2	Assez bons résultats.
30 mai.	31 mai.	4 juin.	Casablanca	10 heures.	Inconnu. Très mal observé.
30 mai.	31 mai.	5 juin.	Mediouna. . . . . Aïn-Sebab.	10 heures.	Inconnus. Non observés.
6 juin.	7 juin.	8 juin.	Rabat.	7 heures.	Très bons résultats.
6 juin.	7 juin.	9 juin.	Mehedya	7 heures.	Assez bons résultats.
8 juin.	9 juin.	10 juin.	Kenitra	7 heures.	Très bons résultats.
8 juin.	10 juin.	12 juin.	Dar-bel. . . . . Hamri.	7 h. 1/2	Très bons résultats.
14 juin.	15 juin.	16 juin.	Sidi-Kassem	17 h. 1/4	Aucun résultat.
21 juin.	22 juin.	23 juin.	Moulay Idries. . . . . Mkrassine.	4 h. 1/2	Très bons résultats.

nuits froides du mois de mai, la mort des criquets inoculés ne survenait qu'au bout de huit, neuf et quelquefois même dix heures, alors que, pendant les heures parfois très chaudes de la journée, nos malades succombaient en trois ou quatre heures.

Nous avons, d'autre part, observé au 32e passage de la série B une modification brusque de la virulence. Jusqu'à ce moment, nous avions effectué toutes nos inoculations sur des criquets de la région. Or, à partir du 25 mai, il était impossible de trouver des colonnes absolument indemnes dans la zone infectée; nous nous sommes procuré des sujets sains, ramassés à 70 kilomètres plus au sud, à Dar Caïd Moussa, dans les Doukkalas. Ils avaient environ quinze jours de plus que ceux des Ouled-Saïd. Ce sont ces criquets qui ont survécu pendant quatorze heures, alors que nous étions en possession d'un virus qui tuait en quatre heures. Nous avons répété l'expérience : chaque fois, elle a été probante; un bacille très virulent pour un stade donné l'est donc beaucoup moins pour un stade plus élevé. Donc il s'atténue. Or, dans les champs, où des taches d'âge différent se mélangent fréquemment, le même fait doit se reproduire, et il est logique de supposer que, si l'atténuation s'accentue, ce bacille doit finir par ne plus entraîner la mort et peut-être même par conférer une certaine immunité. C'est ce que nos essais allaient essayer de démontrer.

Quoi qu'il en soit, la conclusion suivante s'impose : c'est qu'il est indispensable, pour la préparation des bouillons, de se servir d'un virus obtenu à partir de criquets du même stade ou d'un stade plus élevé que ceux que l'on veut contaminer.

2° La contamination.

Théoriquement, la maladie se transmet surtout par l'ingestion des pâtures souillées par les déjections des malades. Nous ne croyons pas que ce soit la règle; c'est même l'exception. Lorsqu'on examine des bandes de criquets infectées, il est facile de reconnaître les malades : ils sont faibles, manquent de force, se blottissent sous les feuilles, les herbes, au milieu des touffes de palmier nain. Lorsqu'on cherche à les prendre, ils sont incapables de se sauver. Ce n'est que plus tard qu'ils deviennent mous, flasques, que la teinte des téguments se fonce de plus

en plus, surtout au niveau des premiers anneaux de l'abdomen.

A ce moment, mais à ce moment seulement, la diarrhée apparaît, et l'on peut alors voir sourdre une gouttelette liquide à l'anus, chaque fois que l'animal fait un effort. Mais tous n'arrivent pas à ce stade de la maladie ; ils sont dévorés bien avant.

Pour nous rendre compte de l'importance considérable de ce facteur, nous avons réalisé l'expérience suivante : nous avons éparpillé deux cents cadavres de criquets sur le front d'une colonne. Pour faciliter l'observation, ils ont été placés sur un sentier dénudé, où nous avons pu les photographier. Nous avons alors assisté, des heures durant, à des luttes terribles. Trois, quatre, cinq, six criquets parfois, se disputaient pour avoir qui, une patte ; qui, un morceau de l'abdomen ; qui, un lambeau de la tête. Il aurait fallu un Fabre pour observer et décrire ces scènes de carnage. La cavité abdominale était toujours la première consommée. Lorsque les parties molles étaient dévorées, des luttes épiques commençaient pour le partage des restes : les pattes, la partie antérieure de l'abdomen, le thorax, la tête, qui, elle-même, finissait par disparaître. Un grand nombre de criquets participaient à la curée. Nous avons pu en compter jusqu'à cinquante. S'il se fût agi de malades, en admettant qu'un cadavre ait suffi à contaminer vingt criquets, et que, chez eux, la maladie ait duré trois jours, un calcul bien simple montre, qu'au bout de quinze jours, le nombre des animaux infectés se serait élevé au chiffre formidable de près de 13 milliards. Si les choses se passaient ainsi dans la nature, l'acridiophagie devait jouer un rôle de tout premier ordre dans la diffusion des épizooties.

Aux cadavres sains, nous avons alors substitué des cadavres infectés, et nous les avons placés, non plus sur un terrain nu, mais dans une prairie, Nous avons vu les mêmes scènes se reproduire. Les premiers arrivés se bornaient à pomper le liquide diarrhéique qu'on voyait sourdre à l'anus ou celui qui humectait la cavité buccale. Chacun prenait sa part de cette provende tombée du ciel et s'en allait. Lorsque les liquides virulents eurent disparu, les suivants commencèrent par fouiller au niveau de l'anus et ouvrirent ainsi les cadavres qui furent peu à peu démantelés.

Dans ces conditions, la contamination des colonnes de criquets et la dissémination de la maladie devait être très facile.



Voracité des criquets.

Les photographies de ces deux pages représentent les criquets déjà âgés escaladant des figuiers. Entassés sur les branches, dont ils ont déjà dévoré les feuilles, ils rongent l'écorce des jeunes pousses.

C'est ce que des expériences précises allaient démontrer. Nous avons continué d'étudier les mœurs des acridiens et nous avons



Voracité des criquets.

constaté que, dans les bandes infectées, l'acridiophagie se développait d'une façon extraordinaire. Dès que, pour une raison

ou pour une autre, un criquet se montre affaibli, et, par conséquent, moins adapté pour la lutte, moins armé pour se défendre, dès qu'il ralentit sa marche, il devient immédiatement la proie de ses voraces congénères qui commencent à le dévorer vivant : l'un prend une patte, l'autre un fragment d'abdomen, malgré les défenses et les réactions du malheureux écorché vif ; mais tous montrent une prédilection marquée pour le contenu intestinal et le liquide de la cavité générale, qui renferment du coccobacille en culture presque pure. Nous avons pu voir un tout petit criquet, au deuxième stade, entrer en lutte avec un criquet de vingt à vingt-cinq jours ; perché sur la patte de son gros congénère, il la dévorait rapidement, bien que le propriétaire du membre soumis à cette vivisection se livrât à des sauts et des révoltes vigoureuses au cours desquels notre jeune vorace était ballotté de tous côtés.

Dans les bandes infectées, le nombre des faibles, des amoindris est considérable. Aussi l'acridiophagie y est-elle beaucoup plus apparente que dans les bandes saines. L'opinion du Dr d'Hérelle est absolue : le principal ennemi de la sauterelle, c'est la sauterelle elle-même. On peut ajouter que, dans les colonnes contaminées, la base de l'alimentation du criquet, c'est le criquet lui-même.

Il devient ainsi évident que le mode principal de contamination, c'est l'acridiophagie. La vie des malades est abrégée, puisque les animaux sains les mangent au premier signe de faiblesse et les empêchent ainsi de répandre sur les herbes des produits virulents. Il devient aussi évident qu'il est presque impossible de trouver des cadavres sur le parcours des taches malades. Il faut chercher sous les herbes, sous les figuiers de Barbarie, dans les touffes de palmier nain, pour en trouver quelques-uns ou même seulement quelques débris. Nous avons vu une tache infestée par du bouillon réduite au dixième de sa surface le huitième jour après l'infestation, mais nous n'avons jamais vu un seul cadavre. Cette tache ne s'était pas fractionnée. On n'avait pas employé contre elle les procédés habituels de lutte. Un homme l'avait suivie chaque jour depuis le lever du soleil jusqu'à son coucher. Les ennemis des criquets ne pouvaient être invoqués pour expliquer cette disparition des 9/10 de l'effectif; ils n'étaient pas plus nombreux là qu'ailleurs.

Le seul ennemi, c'était le criquet. L'acridiophagie était poussée à un degré considérable parce que le coccobacille répandu sur le front de la colonne avait placé les premiers infectés dans un état d'infériorité physique.

D'autres facteurs interviennent pour favoriser la contagion. Citons seulement la densité des bandes et l'âge des criquets.

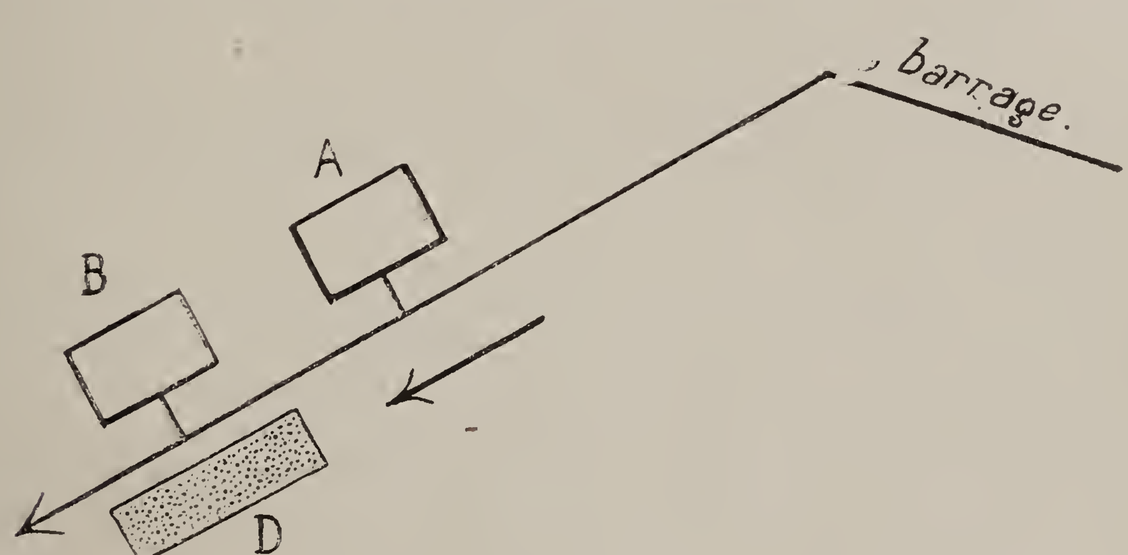
3° Évolution des épizooties restreintes.

(*Expériences préliminaires.*)

Les expériences préliminaires ont été nombreuses. Nous ne rapporterons ici que les plus importantes d'entre elles, celles dont il a été possible de déduire des conclusions très nettes, soit en faveur de la méthode, soit contre elle.

Expérience I. — *Contamination en champ clos par bouillon.*

Deux enclos en tôle A et B (voir la figure ci-dessous) de 25 mètres de côté sont édifiés à 300 mètres l'un de l'autre, en arrière d'un grand barrage d'arrêt, situé sur un terrain inculte, couvert d'herbes et de palmiers nains. Le 8 juin, nous y faisons entrer une faible quantité de criquets ; le soir à 7 heures, nous



pulvérisons deux litres de bouillon sur les plantes de l'enclos B ; l'enclos A sert de témoin. Comme le nombre de criquets nous paraît insuffisant pour donner lieu à des constatations visibles, nous faisons rentrer une nouvelle quantité de criquets le 9.

Voici les résultats observés par le vétérinaire-major Virey :

« Dès le 10, les criquets présentent la diarrhée symptomatique de l'affection. A partir du 11, le nombre des criquets du parc B diminue progressivement et assez rapidement, jusqu'au 17, tandis qu'il reste stationnaire dans l'enclos A.

« Du 17 au 23, le nombre des criquets en B ne diminue sensiblement plus. Vers la fin, on ne constate même plus d'entérite. A ce moment, les criquets prennent des ailes et quittent l'enclos.

« Le 23, la proportion de criquets restant en B est sensiblement le huitième de celle qui reste en A. En A aucun criquet n'a été infecté ; le nombre n'a pas apparemment diminué. »

Par ailleurs le lieutenant Baer, chargé de la destruction, remarquait :

« 1° Qu'un grand nombre de criquets mouraient dans la zone D avoisinant l'enclos ;

« 2° Qu'aussitôt qu'un criquet était malade, les voisins le dévoraient. Beaucoup de sujets présentaient la dysenterie caractéristique ;

« 3° Que la marche des colonnes passant en ce point, qui était primitivement de 1 à 3 kilomètres par jour, était tombée à 300 mètres. »

EXPÉRIENCE II. — *Contamination par bouillon d'une tache de 40 hectares.*

Le samedi 8 mai, une tache située près de Mechra bou Kechba, au confluent de l'Oued Chegaiga et de l'Oum er Rbia, se dirigeant suivant une direction sud-nord, et occupant un front de 400 mètres sur une profondeur de un kilomètre, est contaminée par la pulvérisation de 6 litres de bouillon de vingt-quatre heures. La culture était peu abondante, car la température était restée pendant plus de douze heures au-dessous de 15°. Les pulvérisations ont eu lieu le soir, à la tombée de la nuit, en tête de la colonne, sur les broussailles (palmiers nains, asperges sauvages, fenouil), déjà noires de criquets, âgés de douze à quinze jours. Aussitôt après la pulvérisation, les criquets ont bu avidement les gouttelettes de bouillon. Vers une heure du matin, une très forte pluie d'orage a balayé le bouillon qui n'était pas encore absorbé. Malgré ces circonstances défavorables, dès le cinquième jour, un grand nombre de criquets sont atteints d'entérite. Nous en prélevons 100 au hasard, et nous les mettons en cage. Au bout de quarante-huit heures, 36 sont morts ou ont été mangés, ce que nous traduisons en disant que le taux de la mortalité est de 36 p. 100. En réalité, 25 sont morts et 11 ont été dévorés vivants. Or nous savons que ces derniers étaient presque sûrement des malades.

Le front de la tache a la même étendue que le 8, mais la profondeur n'est plus que de 100 mètres. La densité formidable au début est fortement réduite. De plus, alors que les taches du même âge ou même plus jeunes, mais non infectées, ont parcouru environ 1.200 à 1.500 mètres, pendant les journées chaudes du 13 et du 14, la nôtre est restée stationnaire, ne parcourant que 300 à 400 mètres. Le dixième jour, nous estimions qu'elle était réduite au 1/10 de ce qu'elle était au début. A partir de ce moment, la mortalité a diminué, malgré la persistance de l'entérite. Vers la fin de mai, les derniers, mais rares survivants, ont été absorbés dans de nouvelles colonnes.

EXPÉRIENCE III. — *Contamination en cage avec des criquets malades.*

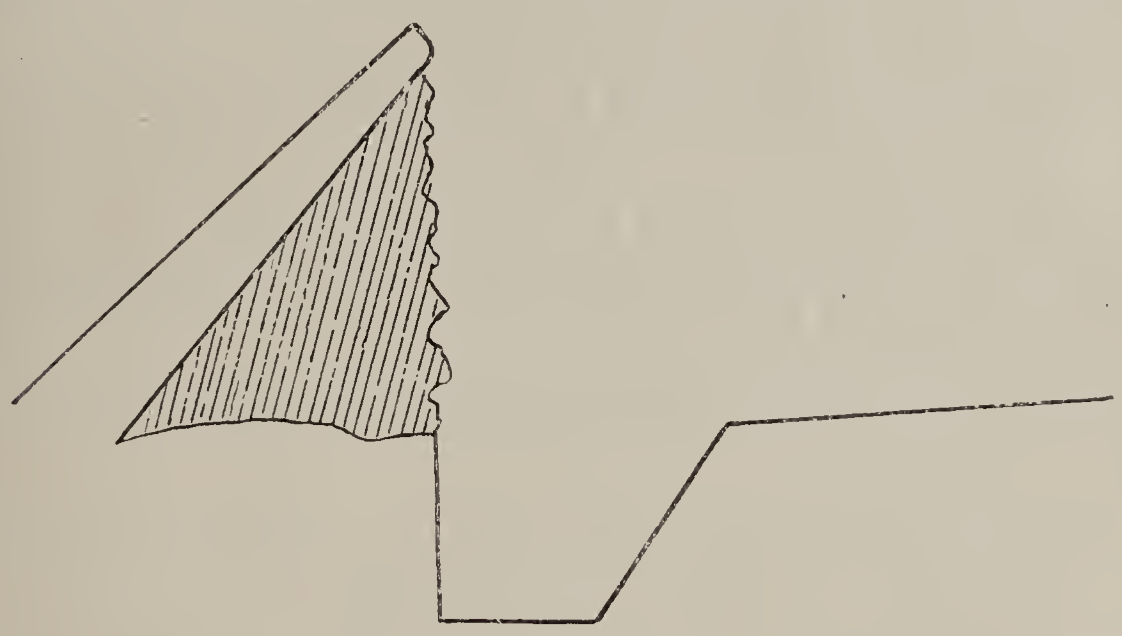
Trois criquets atteints de diarrhée spécifique sont placés dans une cage A avec 60 criquets beaucoup plus jeunes (quinze jours environ). Dans une autre cage B, on met 60 criquets témoins. Ces criquets ont été récoltés le 16 mai à 15 heures, au moment même de l'expérience. Les malades sont dévorés pendant la nuit. Le 18 mai, à 21 heures, il reste dans la cage A

42 criquets infectés. 18 sont morts de maladie. Dans la cage B, 2 criquets seulement sont morts non malades.

L'expérience n'a pu être poursuivie faute de temps. Néanmoins, elle a prouvé que l'entérite de d'Hérelle est très contagieuse et qu'au début des épidémies, elle peut entraîner la mort en moins de quarante-huit heures.

Expérience IV. — *Contamination en enclos avec des criquets malades.*

Deux enceintes de 15 mètres de côté sont construites à proximité du camp du kilomètre 80, où nous étions installés. Elles sont limitées (voir la figure ci-dessous) par des tôles ondulées surplombant un fossé de 0m,40 de large sur 0m,30 de profondeur, situé à l'intérieur de l'enceinte. La paroi extérieure du fossé est verticale. On enferme dans les enclos 1 et 2 une certaine quantité



de criquets sains, sensiblement la même des deux côtés, 10.000 environ. Dans l'enclos 1, le 23 mai, à 16 heures, on place 10 criquets malades ramassés dans les champs.

Le 25 mai, c'est-à-dire dès la quarante-huitième heure, un grand nombre de criquets de l'enclos nº 1 ont de la diarrhée. La présence du coccobacille est vérifiée dans le suc musculaire des pattes. Le 28 mai, nous trouvons, dans l'enclos 1, de nombreux cadavres, à moitié dévorés; les autres criquets sont malades. Le nombre assez considérable des cadavres rencontrés tient vraisemblablement au taux élevé de la mortalité par rapport au nombre de criquets de l'enclos. Rien de changé dans l'enclos 2.

Conclusion. — La contamination a été extrêmement rapide. Les premiers symptômes sont apparus très vite et la mort est survenue rapidement (dans les quarante-huit heures).

L'expérience est interrompue dans les circonstances suivantes: Les enclos avaient été construits de façon à éviter le départ des criquets infectés. Les tôles étaient maintenues extérieurement par des massifs en terre.

Nous n'avions pas prévu qu'ils pouvaient servir de rampe d'accès dans un véritable appareil cypriote. C'est ce qui s'est produit le 27 mai ; une colonie contaminée le 24 a traversé le camp. Un grand nombre de criquets, porteurs de virus ont envahi les enclos. Ils font l'objet de l'expérience VI.

Expérience V. — *Contamination d'une tache de 4 hectares par criquets malades.*

Cette tache se trouvait au kilomètre 80 de la voie ferrée de Casablanca à Marrakech, sur la rive gauche de l'oued Chegaiga, et se dirigeait vers le nord-ouest, parallèlement à l'oued. Pour faciliter l'observation, des tôles furent placées sur le côté de la tache opposée à l'oued. Les criquets furent ainsi obligés de se déplacer dans un couloir large de 200 mètres, dans une région couverte de graminées fourragères.

Le 14 mai, à 17 heures, sur le front de la colonne, trois endroits sont nettoyés, débarrassés de toute végétation. 200 criquets morts de maladie, rapportés de Mechra bou Kechba (foyer primaire) y sont éparpillés. Ils sont rapidement dévorés; le lendemain, il ne reste plus que des débris.

Le 17 mai, à 8 heures du matin, avant la mise en route de la colonne, nous constatons, en écartant les herbes, la présence de nombreux cadavres (8 à 10 par décimètre carré). A midi, une heure après la mise en route, il n'existe plus aucun cadavre. Sur le front de la colonne tous les criquets sont contaminés. Quelques-uns n'ont pas de diarrhée, mais le contenu de l'estomac est modifié, et le liquide de la cavité générale renferme de nombreux coccobacilles en culture pure.

Le 18 mai, la tache est réduite à un front de 120 mètres sur 50 à 75 mètres de profondeur. Sa densité, considérable au début, est extrêmement faible. L'allure de la colonne a été ralentie : 150 mètres en quatre jours, alors que, les jours précédents, elle couvrait 200 mètres par jour.

Le 19 mai, la tache est presque anéantie. Elle a fondu peu à peu, sans laisser de traces.

Expérience VI. — *Observation en champ clos de criquets provenant d'une tache contaminée.*

Ce sont les criquets dont nous avons parlé plus haut (Expérience IV). La colonne à laquelle ils appartenaient avait été contaminée avec des animaux provenant d'nne colonne elle-même infectée avec des criquets de l'expérience V. C'était donc un foyer épizootique quaternaire.

Le 27 mai, un grand nombre de criquets porteurs de virus entrent dans les enclos I et II. Dans l'enclos I, la densité est celle des colonnes; dans l'autre enclos (enclos II), elle est égale à celle du front des colonnes. Il est impossible d'évaluer même approximativement le nombre des criquets au mètre carré; ils forment une couche grouillante de 3 à 4 centimètres d'épaisseur.

Le 28 mai, la moitié des prisonniers ont disparu de l'enclos II. Il n'y a pas de cadavres. Dans l'autre enclos, les cadavres sont très abondants. Tous sont des diarrhéiques.

Le 30, les criquets continuent à mourir en quantité formidable. Nous estimons que leur nombre est réduit des 2/3, à la fin du troisième jour. Dans la journée, ils se rassemblent dans le fossé et s'y promènent comme sur une piste; seuls, les agonisants vont mourir sous les herbes, où les survivants vont les dévorer pendant la nuit.

Le 31, c'est-à-dire, le quatrième jour, l'effectif est réduit approximativement au 1/6. Les malades ont beaucoup plus de diarrhée que les criquets inoculés dans la cavité abdominale.

Le 1er juin, la mortalité continue à être énorme. Elle doit s'accroître du

fait de l'accumulation sans déplacement. Il ne reste plus que le 1/10 des animaux entrés dans les enclos le 27 mai. Les cadavres sont excessivement nombreux et ne sont plus mangés par les survivants. Ils répandent dans l'air une odeur pestilentielle. Parmi les vivants 80 p. 100 ont de la diarrhée.

Le 6 juin, le nombre très réduit des criquets ne semble plus diminuer, Les enclos sont envahis une deuxième fois par une colonne peu contaminée (5 p. 100), infectée spontanément (?). On l'infecte à nouveau avec des malades d'un foyer quaternaire.

Le 9 juin, nous trouvons sous les herbes de nombreux agonisants qui présentent de la diarrhée.

Le 16 juin, il ne reste plus que très peu de criquets, presque tous diarrhéiques (90 p. 100). L'expérience est considérée comme terminée et concluante.

Toutefois, le 19, la mortalité semble arrêtée. Tous les survivants ont pourtant de la diarrhée, mais l'examen microscopique du suc musculaire des pattes reste négatif; des ensemencements sur gélose y décèlent cependant l'existence du coccobacille. Enfin l'inoculation intra-abdominale, à des criquets sains, de liquide diarrhéique entraîne la mort en 13 heures et demie. En continuant les passages, le bacille retrouve bientôt sa virulence; au sixième, il tue, sans dilution, en 4 heures.

Le 19 juin, le nombre des criquets ne diminue plus. Nous en prélevons 100 dans une cage; au bout de 48 heures, 21 sont morts.

Le 21 juin, nous effectuons un nouveau prélèvement. La mortalité n'est plus que de 12 p. 100.

Nous avons donc affaire à un bacille atténué, capable de provoquer une entérite bénigne, n'entraînant pas fatalement la mort.

Expérience VII. — *Réinoculations de criquets guéris.*

Le 26 juin, nous prélevons 200 criquets dans une tache infestée par bouillon le 10 juin, et nous les mettons en cage.

Le 29, 150 sont morts d'entérite spécifique.

Le 2 juillet, il n'en reste plus que 25, parmi lesquels une quinzaine ont de la diarrhée.

Le 9, ils paraissent guéris, le symptôme diarrhée a disparu. Nous leur inoculons alors du bouillon virulent déjà ancien, qui tue en 12 heures des criquets témoins : 6 sont inoculés dans la cavité générale, et 6 sur l'armature buccale.

Parmi les premiers, un seul est mort en 12 heures; tous les autres ont survécu; ils ont opéré, sans encombre, leur dernière mue, dix jours après. Nous les avons conservés jusqu'au 20 juillet.

Ils étaient peut-être vaccinés. Nous regrettons de n'avoir pas eu de bouillon plus actif qui nous ait permis d'apprécier, d'une façon irréfutable, si cette tolérance pour le parasitisme était bien de l'immunisation.

Expérience VIII. — *Effets du coccobacille sur d'autres insectes.*

Au cours de nos laborieuses recherches sur le terrain, nous avons observé quelques faits révélant (?) une action du coccobacille sur une sauterelle indigène que nous n'avons pas déterminée.

Par contre, le bacille d'Hérelle ne s'est pas montré pathogène pour un autre insecte ailé que nous rapportons au genre Ephippiger, très nombreux

en certaines régions du Maroc, où il cause de gros ravages. Ces orthoptères dévoraient les criquets contaminés. Nous en avons conservé pendant 20 jours, en cage, sans pouvoir constater un seul signe morbide. Cependant, la recherche du coccobacille dans le tube digestif était toujours positive.

4°. Marche des épizooties en plein champ.

Parallèlement à nos expériences en cage ou en champ clos, nous poursuivions des infestations en plein champ qui devaient nous permettre de constater si la maladie se comportait de la même façon dans les deux cas, d'étudier les variations de la morbidité et de la mortalité, bref d'apprécier la valeur de la méthode en tant qu'application pratique.

Ces essais, faits sur une très large échelle, ont eu lieu à Rabat, à Kénitra, à Dar Bel Hamri, à Meknès, mais les plus importants et les mieux observés ont été réalisés sur le territoire des Ouled-Saïd, entre la piste de Casablanca à Marrakech et l'Oum er Rbia, dans la plaine littorale (voir la carte ci-contre) qui s'étend avec uniformité depuis la falaise du plateau de Settat jusqu'à la mer, et dont la monotonie n'est rompue que par quelques bancs de roches très dures qui émergent çà et là, et forment des alignements réguliers d'arêtes rocheuses (sokhrats), de murailles crevassées ruiniformes. Les sauterelles, arrivées au début de mars, y ont séjourné en certains endroits pendant plus de quinze jours. Elles avaient trouvé des lieux de pontes particulièrement favorables au pied de ces arêtes rocheuses et sur les flancs schisteux et grèseux des mamelons arrondis, d'un modelé assez doux, qui limitent les vallées. Aussi la densité des pontes y était-elle énorme. Nous avons pu en compter jusqu'à vingt au décimètre carré, sur des étendues parfois considérables.

Voici, à titre d'indication, la date des débuts des pontes :

Tribu des Moualine el Hofra, 6 mars;

Tribu des G'Dana, 8 mars;

Tribu des Ouled-Abbou, 17 mars.

Sur la rive gauche de l'Oum er Rbia, dans les Doukkala, les pontes furent également très nombreuses. Les jeunes criquets nés pendant la deuxième quinzaine d'avril et le début du mois de mai, dans ces endroits pierreux, se dirigèrent vers la plaine, par petites colonnes, en dévorant les cultures de printemps

(alpiste, pois chiches, fenugrec, maïs, millet, sorgho, etc.). Les orges furent épargnées parce qu'elles étaient presque à



maturité. Les blés ne furent attaqués que par les gros criquets. Nous n'avons jamais observé de direction générale bien nette. Néanmoins, toutes ces taches se groupèrent en bandes impor-

tantes de 10, 15 et même 25 kilomètres de front sur 1 à 10 kilomètres de profondeur. A mesure que nous approchions de la dernière mue, ces bandes se sont fusionnées pour ne former bientôt plus qu'une colonne unique, avec un front presque continu d'une cinquantaine de kilomètres. La densité était considérable; sur le front, la couche de criquets avait plusieurs centimètres d'épaisseur et la masse des criquets masquait complètement la terre et la végétation spontanée.

Pendant que ces criquets envahissaient l'angle formé par l'Oum er Rbia et la piste de Casablanca à Marrakech, ceux nés dans les Doukkala se concentraient sur l'Oum er Rbia et finissaient par le traverser en trois points : à Mechra Bou Laouane, à Mechra Saf safa et à Si Saïd Machou.

Toutes ces colonnes qui se succédaient faisaient qu'en réalité l'immense polygone compris entre Si Saïd Machou, le kilomètre 50, Settat, Khrémisset, Bou Laouane, était couvert de criquets, soit une surface d'environ 1.500 kilomètres carrés. C'est sur ces criquets qu'ont été réalisées les expériences suivantes, qui ont duré du mois de mai au mois de juillet, époque à laquelle les sauterelles de deuxième génération, très peu nombreuses, ont pris leur vol et sont parties vers l'Est et le Nord-Est.

Le 18 mai, une tache de 6 kilomètres de front est contaminée entre Sidi Ali et Sidi Guerrouaoui, avec des criquets de Sidi Ali (*Contamination* I).

Le 19 mai, deux taches des Gu'Danas sont infectées par le capitaine Lapasset avec des criquets de Sidi-Ali (*Contamination* II).

Du 19 au 25 mai, le foyer épizootique est étendu à une colonne énorme s'étendant du kilomètre 95 au kilomètre 80, à la zaouïa de Sidi Rahal (*Contamination* III).

Du 20 au 25, le capitaine Lapasset contamine le front de la colonne des Ouled Bou Ziri et les criquets d'El Kremis (*Contamination* IV).

Les 2 et 3 juin, 36 litres de bouillon sont pulvérisés sur la tache d'El-Khremis, 12 litres à Souk-el-Arba, et 70 litres entre Sidi bou Thlane et Settat (*Contamination* V).

Le 4 juin, 70 litres de bouillon sont répandus à Si Saïd Machou, Mechra Saf safa, Bou Laouane (*Contamination* VI).

Enfin, le 19 juin, une tache peu infectée est contaminée, à Sidi Ali, avec des criquets malades plus jeunes prélevés à Sidi Mekki (*Contamination* VII).

Nous allons étudier les résultats obtenus par ces diverses contaminations, depuis le moment de l'infestation jusqu'au moment du départ des vols de deuxième génération.

Contamination I, *par criquets malades.*

Le 18 mai, une tache de 6 kilomètres de front, qui se trouve entre Sidi Ali et Sidi Guerrouaouï et se dirige vers le sud, est contaminée avant la fusion définitive de toutes les petites colonnes. La contamination est faite, entre 8 et 11 heures du matin, avec des criquets malades de même âge, prélevés à Sidi Ali, sur les bords de l'oued Chegaiga, c'est-à-dire dans un foyer secondaire.

A 6 heures du soir, nous constatons que, dans la partie de la tache infestée à 8 heures du matin, 20 p. 100 des criquets sont atteints de diarrhée. L'examen au microscope y montre de nombreux coccobacilles. La contagiosité de l'affection est donc formidable.

Le 19 mai, 100 criquets sont prélevés au hasard sur le front : 90 p. 100 sont contaminés. Le contenu intestinal, le suc musculaire sont des cultures presque pures ou pures de coccobacille.

Pour obtenir cette infestation intense, il nous a suffi de répandre sur le front de la colonne, 5 à 10 malades par mètre courant, un peu plus sur les pistes. Les criquets malades constituent donc un aliment de choix pour les sujets sains. Nous avons pu suivre des criquets privés de leur abdomen qui continuaient à marcher jusqu'au moment où un affamé venait détruire les centres nerveux moteurs. L'ingestion d'excréments souillés ne doit avoir qu'une influence réduite, car parmi les criquets de la tache, beaucoup n'avaient pas de diarrhée au moment de la mise en cage; elle n'apparaissait qu'au bout de quelques heures. C'est néanmoins un facteur de contamination qu'il ne faut pas rejeter. Nous avons fait séjourner des criquets sains pendant une demi-heure dans une cage infectée. 24 heures après, ils présentaient la diarrhée spécifique.

Le 21 mai, l'infection est très nette (diarrhée, faiblesse, modifications de la coloration de l'abdomen).

Le 22 mai, les criquets s'attardent dans un jardin de figuiers entouré de cactus, dont ils dévorent les raquettes dans la journée. En cherchant au pied des figuiers de Barbarie, nous trouvons un grand nombre de cadavres ou de débris de cadavres. Le fait s'explique facilement par le ralentissement de la marche dans le jardin qui a empêché leur dissémination sur un long parcours. Dans les jardins des environs, envahis par des taches non infectées, il n'y a pas de cadavres. De plus, la bande de criquets laisse des traînards en nombre considérable.

Nous prélevons 100 criquets. Au bout de 24 heures, 24 sont morts. Avec les 4 premiers, nous inoculons dans l'abdomen, 4 criquets sains. Ils meurent en 7 heures et demie en moyenne.

Le 24 mai, 50 p. 100 des criquets examinés ont de la diarrhée; mais un fait saillant apparaît : dans ce foyer tertiaire, les criquets au même stade que

les malades qui ont apporté la contagion, ou plus jeunes, sont atteints en beaucoup plus grand nombre que ceux ayant atteint un stade plus avancé. Chez les criquets plus jeunes que les criquets vecteurs de virus, l'infection est massive; l'organisme totalement envahi par le coccobacille constitue comme une culture pure, tandis que chez les criquets âgés, l'envahissement est bien moindre. Le bacille de d'Hérelle est peu abondant; il faut avoir recours aux ensemencements pour déceler sa présence dans le suc musculaire. Sa virulence est moindre ainsi que l'ont démontré les inoculations de contrôle. (Voir *infra.*)

Conclusion. — Un bacille virulent pour des criquets d'un stade l'est moins pour les criquets arrivés à un stade supérieur. La virulence doit donc s'atténuer dans les taches étendues, quand il y a mélange de bandes d'âge différent. Or ce mélange est la règle.

Le 27 mai, la colonne est moins dense, moins importante.

Le 28, 100 criquets pris au hasard sont mis en cage. Au bout de 48 heures, 8 sont morts, 80 ont de la diarrhée, 12 semblent sains mais sont porteurs de bacilles. La tache est tout à fait clairsemée.

Le 4 juin, la tache a presque totalement disparu; les survivants sont englobés dans la grande colonne figurée sur la carte.

Contamination II, *par criquets malades.*

Deux taches des Guedanas sont contaminées le 19 mai, dans les mêmes conditions que I.

Le 30 mai, le capitaine Lapasset nous écrivait : « Aux Guedanas, j'ai obtenu des résultats merveilleux et dans deux cheickats qui étaient complètement couverts de criquets, il n'y a plus rien actuellement. Il est vrai que l'on a employé les pièges, le feu et le coccobacille. Mais près des jardins de cactus, des quantités de cadavres de criquets ont été trouvés. » Ils étaient morts de maladie.

Contamination III, *par criquets malades.*

Du 19 au 25 mai, une énorme colonne de criquets est infestée entre le kilomètre 95, le kilomètre 80, la Zaouïa de Sidi Rahal, et Sidi el Hachmi avec des malades provenant de Sidi Semmahi, c'est-à-dire d'un foyer tertiaire (voir Contamination I). Tous ces criquets sont de même âge sauf aux deux ailes de la colonne, dans la région de Sidi el Haouari et au sud de Sidi el Hachmi, où ils ont une dizaine de jours de plus. La partie AB de la colonne, comprise entre le kilomètre 95 et Sidi Kraleg, est contaminée le 21 et le 22 mai.

La partie A′ B′, comprise entre Sidi Kraleg et la Zaouïa de Sidi Rahal, est contaminée le 19 et le 20.

La partie A″ B″, située au sud de Sidi Rahal, est contaminée le 23 et le 24.

Dès le 27, les criquets sont contaminés, mais en proportion variable; c'est pourquoi nous allons étudier la marche de la maladie séparément dans chacun des trois secteurs A B, A′ B′, A″ ″ B″ ″.

1° *Secteur* AB. — Le 28 mai, il se réunit aux criquets contaminés le 21 et le 22, des colonnes plus âgées venant de Sidi el Haouari et des bords de l'Oum er Rbia.

Le 10 juin, la morbidité est de 50 p. 100.

Le 17 juin, la morbidité est la même, la progression est lente ; la mortalité doit être peu accusée, car la densité n'a pas sensiblement diminué. La colonne a laissé de nombreux traînards dans la région de Sidi Kraleg.

Le 19 juin, les prélèvements accusent une mortalité de :

10 p. 100 à Bir el Besri,
8 p. 100 à Sidi Bou Zekri.

Le 21 juin, nous constatons que les traînards de Sidi Kraleg sont presque tous malades (80 p. 100).

Le 22 juin, la mortalité est 10 p. 100 à Bir el Besri. Dix criquets inoculés avec la diarrhée des malades meurent en 15 h. 25.

Le 24 juin, aux alentours de Sidi Bou Zekri, la tache, jusqu'alors assez dense, a diminué légèrement. Beaucoup de criquets ont subi la dernière mue. Il est difficile d'apprécier. La morbidité chez les sauterelles est la même que chez les criquets (50 à 60 p. 100).

Le 25 juin, à Bir el Besri, la morbidité chez les sauterelles s'élève à 50 p. 100; mais la mortalité n'est que de 2 p. 100. Nous conservons les survivantes : 20 meurent en 72 heures, puis la mortalité s'arrête.

Conclusion. — Dans le secteur AB, les taches n'ont pas notablement diminué. La mortalité a été régulièrement en décroissant. Elle n'est pas fonction de la morbidité. Donc, la virulence s'est atténuée.

2° *Secteur* A′B′. — Dans le secteur A′ B′, dès le 27 mai, la morbidité est considérable : 56 p. 100 dans la partie ouest, 75 p. 100 dans la partie est. Notons, en passant, que c'est la partie centrale qui a traversé les enclos de Sidi Ali, le 23, et y a laissé des malades. Elle a, de plus, laissé dans le camp de nombreux traînards qui sont morts; nous retrouvons leurs cadavres qui n'ont pas été mangés.

Quatorze criquets sont contaminés *per os* avec la diarrhée le 28 mai, à 12 heures :

2 meurent	en	36 heures	avec	diarrhée	
1 —	en	48	—	—	—
5 —	en	72	—	—	—
1 —	en	120	—	—	—
3 —	en	140	—	—	—

Le 7 juin, la morbidité est de 40 p. 100.

La colonne laisse de nombreux traînards. La densité a notablement diminué; la tache est clairsemée et en voie de disparition. A chaque pas, on trouve des criquets morts ou agonisants qui sont dévorés par leurs congénères. Cet acte banal est frappant, en raison de sa fréquence exceptionnelle en cet endroit.

Le 10 juin, la morbidité est de 70 p. 100.

Le 18 juin, elle s'élève à :

50-60 p. 100 à El Kheminine,
80 p. 100 au kilomètre 55,
70 p. 100 à la ferme Mas,
80 p. 100 à Sidi Mekki (tache formée par des traînards).

La partie ouest du secteur A B, au nord du chemin de fer est clairsemée. Il n'y a plus de colonne, plus de marche, plus de direction.

Le 24 juin, d'une façon générale, sur tout ce front, la densité a notablement diminué: les criquets sont très peu nombreux. La tache de Sidi Mekki

formée par des traînards a presque totalement disparu. Parmi les restants, la morbidité est de :

80 p. 100 à Sidi Mekki,
70 p. 100 au kilomètre 50,
70 p. 100 à la ferme Mas.

Le 26, la mortalité (mise en cage, 48 heures), s'élève à :

22 p. 100 à Kheminine,
35 p. 100 à la ferme Mas,
25 p. 100 au kilomètre 50,
30 p. 100 à Sidi Mekki.

La morbidité n'a pas diminué depuis le début. Nous vérifions la virulence : dix sauterelles sont inoculées à 20 heures. La durée de la maladie est de :

13 h. 40 (kilomètre 50),
17 h. 15 (ferme Mas),
15 heures (Kheminine).

Conclusion. — Les infestations faites avec des malades ont pleinement réussi. Les criquets du secteur A′ B′, où la lutte défensive n'a pas été organisée, ont été presque complètement détruits. Cependant la virulence du coccobacille a diminué.

3° *Secteur* A″ B″, contaminé les 23 et 24 mai.

Le 27, la partie nord de A″ B″ est fortement infectée (50 p. 100). La partie sud (Sidi Rahal) l'est très peu.

Le 9 juin, la morbidité s'élève à 70 p. 100. Nous constatons la présence de nombreux traînards et d'une quantité exceptionnelle de cadavres ou d'agonisants, cachés sous les feuilles.

Le 12, la partie sud de ce secteur se réunit à la colonne d'El Khremis et de Souk el Arba, à Dar O. Taouti.

Le 18 juin, l'aile gauche est très clairsemée, peu dense dans la région de Dar el Fatima (morbidité 80 p. 100). L'aile droite est moins infectée (60 p. 100) ; à Dar Machachat, la mortalité est de 14 p. 100.

Le 24 juin, il semble se produire à Dar Machachat quelque chose d'analogue à ce qui se passe dans la région de Bir el Besri. La colonne se divise en deux parties : l'une continue sa marche en avant malgré l'infestation, l'autre reste sur place. Parmi ces traînards,

La morbidité est de 80 p. 100,
La mortalité de 44 p. 100.

Le 28 juin, la moitié des criquets ont effectué leur dernière mue.

Morbidité 70 p. 100,
Mortalité 58 p. 100.

A l'aile gauche, dans la région de Dar el Fatima, voisine du kilomètre 50, la tache a presque disparu :

Mortalité 48 p. 100.

Conclusion. — Dans cette région, les essais ont eu un plein succès. Les criquets sont presque tous morts.

Contamination IV, *par criquets malades*, faites par le capitaine Lapasset à El Khremis et au sud-ouest de El Arba, le 19.

Le 30 mai, le capitaine Lapasset nous écrit : « Nous subissons, en ce moment, une invasion effroyable de criquets du côté des Moualine el Hofra; ils ont été contaminés avec des criquets pris aux Gu'danas, mais cela n'a donné aucun résultat. Pourquoi, je l'ignore? »

Nous avions prévu le fait. Il ne nous a pas étonné. Les criquets des Gu'danas constituaient déjà un foyer quaternaire. Mêmes observations à El Khremis.

Conclusion. — Les passages successifs ont abouti à une atténuation considérable de la virulence.

Nous décidons de faire de nouvelles pulvérisations.

Contamination V, *par bouillons virulents.*

Trente-six litres sont pulvérisés le 22 juin, à quelques kilomètres à l'est d'El Khremis, 12 litres à El Arba. et 70 litres entre Sidi Bou Tlane et Settat. Toutes ces colonnes convergent sur la casbah des Ouled Saïd. La première mesure 12 kilomètres de front sur 8 kilomètres de profondeur, les autres forment une masse ininterrompue mesurant 18 kilomètres de long sur 12 kilomètres de profondeur. Le 3 juin, après avoir causé des ravages considérables, surtout à l'approche de la dernière mue, elles arrivent à Dar O. Taouti. Elles ont laissé derrière elles de nombreux traînards. Leur réunion forme un véritable océan de criquets, auquel on oppose deux chantiers dont la longueur totale est de 10 kilomètres. Une hécatombe formidable a lieu. Néanmoins, une grosse majorité évite les pièges et les barrages, et les criquets traqués se divisent en trois colonnes : deux très petites qui s'orientent l'une à l'est, l'autre à l'ouest, et une très importante (C D) qui prend une direction ouest-sud-ouest, est-nord-est, et se fusionne bientôt avec l'extrême droite de la tache A″ B″.

La morbidité est de 90 p. 100.

Nous trouvons de nombreux cadavres, 1 ou 2 sous chaque touffe de palmier nain. Le 18 juin, la morbidité est de 60 à 70 p. 100; la mortalité n'est que de 14 p. 100.

Le 22 juin la tache C D a nettement diminué ; les criquets et les sauterelles sont très clairsemés dans les champs; la vitesse est réduite.

Mortalité 22 p. 100 à l'aile gauche,
Mortalité 20 p. 100 à l'aile droite.

Inoculations : Durée de la maladie, 13 heures.

L'observation n'a pu être continuée. Une grosse tache de criquets malades restés près de la casbah des Ouled-Saïd fut seule suivie par le capitaine Lapasset. Il put constater :

« 1° Que les sauterelles provenant de la mue des criquets malades étaient malades elles-mêmes, n'avaient aucune force, volaient mal et se laissaient attraper à la main en plein midi ;

« 2° Qu'au bout de dix jours, tous les criquets et toutes les sauterelles étaient morts sur place. »

Conclusion. — La mortalité a été considérable, et l'épizootie à marche rapide. Mais, ici encore, vers la fin de l'épizootie, la virulence s'était atténuée.

Par ailleurs, 156 litres de bouillon ont été pulvérisés sur un front de 20 kilomètres environ, à la vitesse moyenne de 2 kilomètres à l'heure. La quantité de 6 litres par kilomètre de front a été suffisante pour provoquer une épizootie très contagieuse.

Une équipe ne peut infester que 8 à 10 kilomètres par jour. Si l'on veut éviter les insuccès, l'émulsion pathogène doit, en effet, être répandue le soir pour que les germes ne soient pas entraînés par la rosée ou dilués par elle, et pour qu'ils ne soient pas détruits par la dessiccation ou atténués par la lumière. Si l'on veut appliquer la méthode à tout un pays, il faut donc de nombreuses équipes, surveillées chacune par un technicien.

Contamination VI, *par bouillons.*

Le 4 juin, à Bou Laouane, Mechra Safsafa, Mechra ben Kechba, Si Saïd Machou, les criquets effectuent leur dernière mue.

Le 12 juin, Morbidité : 50 p. 100 (Sidi bou Knadel),
— — 30 à 40 p. 100 (Si Saïd Machou);
— Mortalité : 40 p. 100 (Sidi bou Knadel),
— — 30 p. 100 (Sidi Saïd Machou);
Le 19 juin, Mortalité : 30 p. 100 à Bou Laouane,
— — 10 p. 100 à 8 kilomètres de l'endroit des pulvérisations.

Le 28 juin, à Sidi Saïd Machou, la morbidité est de 50 p. 100, la mortalité 18 p. 100. Les sauterelles sont aussi nombreuses qu'auparavant. Il est impossible de savoir s'il en est venu d'ailleurs. A Sidi Bou Knadel, au contraire, il n'en reste presque plus (Morbidité, 70 p. 100 ; Mortalité, 14 p. 100). Sont-elles mortes, ou sont-elles parties ? Personne ne peut nous renseigner.

Contamination VII, *par criquets malades plus jeunes.*

Le 6 juin, une colonne arrive à Sidi Ali. C'est la troisième qui traverse le camp. Elle est très peu contaminée (50 p. 100). Nous l'infestons à nouveau avec des criquets provenant du foyer quaternaire de Sidi Mekki.

Le 11 juin, la morbidité s'est élevée à 80 p. 100. Depuis le 6 juin, la tache n'a pas progressé. Les criquets sont sur les joncs et les palmiers nains d'Aïn Djema. La densité n'a pas diminué. Ici, encore, il y a une atténuation très nette de la virulence.

Mortalité, le 17 juin : 8 p. 100 (Criquets),
le 19 — 2 p. 100 —
le 19 — 12 p. 100 (Sauterelles),
le 21 — 0 p. 100 (Criquets),
le 21 — 16 p. 100 (Sauterelles).

Inoculations de diarrhée de criquets à des sauterelles (21 juin). Durée de la maladie, 15 heures 15.

Inoculations de diarrhée de sauterelles à des sauterelles (21 juin). Durée de la maladie, 15 heures.

Inoculations de diarrhée de sauterelles à des sauterelles (23 juin). Durée de la maladie, 17 heures.

Mortalité (Sauterelles), 25 juin : 20 p. 100.

Le 25 juin, la mortalité semble avoir augmenté, car la densité de la tache

paraît avoir diminué. La transformation en sauterelles rend l'appréciation difficile.

Conclusion. — Le bacille qui a déjà fait quatre passages par criquets de taches différentes est très peu virulent. Comme dans les expériences précédentes, les sauterelles, pendant les jours qui suivent la dernière mue, semblent beaucoup moins résistantes que les criquets.

Extension naturelle de la maladie. — Toutes nos infestations ont porté sur les points précis énumérés plus haut. Dans nos déplacements, pour l'observation des résultats, nous avons examiné des criquets pris au hasard, tantôt dans des colonnes importantes, tantôt dans des noyaux isolés, tantôt dans les taches clairsemées; nous n'avons jamais eu l'occasion de constater la non-existence de la maladie en un point situé à l'intérieur du polygone considéré comme infecté; seul, le pourcentage de la morbidité variait.

L'épizootie a même dépassé ces limites. Le 3 juin, nous rencontrons, au kilomètre 50, une petite tache de criquets venant de Ber-Réchid et se dirigeant vers le sud-ouest. Elle a été vraisemblablement contaminée par l'apport de criquets malades, par le train qui, le 27 mai, a été arrêté au kilomètre 80 par une très forte colonne de criquets, qui traversait la voie ferrée. La diarrhée contient le microbe spécifique. Des inoculations entraînent la mort en 8 heures.

Le 24 juin, des sauterelles prises à Dar Caïd Moussa, c'est-à-dire à 30 kilomètres au sud des points extrêmes contaminés, sont rapportées au kilomètre 80. Quelques-unes ont de la diarrhée (50 p. 100), mais elles ne meurent pas de façon anormale. On en isole 10 dans une cage. Au bout de 48 heures, pas une seule n'est morte. Au bout de 72 heures, une seule meurt avec diarrhée. Le 5e jour, 4 sont mortes d'entérite spécifique, 5 sont vivantes et vigoureuses. Malgré une diarrhée abondante, elles suivent indéfiniment.

Le 26 juin, nous en prenons 20 et nous inoculons à 10 d'entre elles de la diarrhée prise sur des sauterelles provenant de taches où la mortalité est élevée; les 10 autres sont inoculées avec de la diarrhée de sauterelles récoltées dans des colonnes où nous avons constaté un arrêt de la mortalité. Les résultats sont identiques à ceux obtenus avec des sauterelles

saines. Les premières meurent en 13 heures, les secondes en 15 à 16 heures.

Conclusion. — La mortalité est très faible; la virulence est très atténuée, mais les sauterelles ne semblent pas vaccinées.

Le 28 juin, à Sidi bou Mehdi, nous rencontrons un vol venu des Doukkalas (?). Peut-être vient-il de D. O. Taouti? L'infection est énorme (90 p. 100). Nous trouvons un grand nombre de cadavres de sauterelles dont quelques-uns à moitié dévorés et cependant la mortalité n'est que de 6 p. 100, ce qui s'explique par ce fait que, chez les sauterelles, l'acridiophagie est bien moins intense, bien moins développée que chez les criquets.

Quoi qu'il en soit de l'origine du vol, nous avons ici encore une atténuation très nette de la virulence, et de plus, l'acridiophagie devient un mode secondaire de propagation de l'entérite.

Conclusions générales.

De nos nombreuses expériences, nous croyons pouvoir dégager les conclusions suivantes :

1° *L'exaltation de la virulence* du *Coccobacillus acridiorum* vis-à-vis de *Schistocerca*, de façon à tuer régulièrement en 3 à 4 heures en moyenne par des inoculations intra-abdominales, est chose relativement facile. Mais cette virulence est éminemment variable avec la température, l'âge des criquets inoculés et l'ancienneté de la culture : tel virus qui tue en 3 à 4 heures à 25-30° ne tue plus qu'en 8 à 10 heures à 15-20°. Tel virus qui, inoculé dans la cavité abdominale, entraîne en 4 heures la mort d'un criquet de 15 à 20 jours, ne fait succomber qu'en 14 heures des criquets de 30 à 40 jours.

Il est donc indispensable pour la préparation des bouillons virulents d'employer des criquets d'un stade plus élevé que ceux que l'on veut contaminer. En bouillon, la virulence se conserve assez longtemps pour qu'on puisse après quelques

jours s'en servir pour recommencer les passages. (C'est l'extension de la méthode Sergent.)

2° *L'acridiophagie* est le principal facteur de contamination. Elle joue un rôle prépondérant dans la dissémination de l'affection chez les criquets. Dans les bandes infectées, elle prend des proportions considérables. Tous les malades, les faibles, les déprimés deviennent la proie des forts, des sains. Ainsi s'explique la contagiosité énorme et certaine de l'affection et la difficulté d'apprécier les résultats, eu égard à l'absence presque absolue de cadavres sur l'emplacement occupé par les taches infectées.

3° *La création de foyers épizootiques* est possible par le transport dans les taches saines d'un nombre même très minime de criquets malades. Par ce mode d'intercontamination artificiel, il est très facile d'étendre la maladie à toute une région, beaucoup plus rapidement et beaucoup plus sûrement que la chose ne peut se faire par les modes naturels de contamination.

4° *Les épizooties ainsi créées sont loin d'être foudroyantes.* — Dans les deux cas (pulvérisation de bouillons, transport de criquets malades), la marche de la maladie est la même. Après une période d'incubation dont la durée est variable, on observe toujours une période d'état durant laquelle la morbidité et la mortalité sont parfois considérables : morbidité, 90 p. 100 ; mortalité en 48 heures, 60 p. 100. Les bandes ralentissent leur marche ; quelquefois, elles s'immobilisent complètement ou se séparent en deux parties : l'une, formée par les criquets les plus résistants, qui continue à progresser; l'autre, constituée par les malades, les traînards qui s'arrête.

Puis l'épizootie continue à se propager dans la même bande ou à des bandes voisines, jusqu'à la fin de l'évolution des acridiens et même après la dernière mue. Mais, soit par suite de l'augmentation de la résistance individuelle, soit par suite de l'atténuation de la virulence, soit du fait du mélange de taches d'âge variable, la maladie arrive à son déclin. La morbidité reste la même, tandis que la mortalité décroît assez vite pour tomber parfois à zéro.

5° *La mortalité n'est pas fonction de la morbidité.* — A mesure que les épizooties évoluent, les renseignements fournis par la morbidité deviennent de plus en plus sujets à caution. Comme la virulence subit une atténuation très nette, on finit par rencontrer des criquets doués d'une grande tolérance pour le parasitisme, qui ont de la diarrhée spécifique, mais qui n'en meurent pas. Chez ces criquets, c'est le tube digestif, surtout, qui est envahi par le coccobacille ; le reste de l'organisme l'est très peu et quelquefois même pas du tout.

Pour étudier la marche des épizooties, il faut éviter d'employer la méthode qui se base sur le pourcentage de la morbidité. Il faut étudier seulement la mortalité, et la contrôler par des inoculations.

6° *Les conditions de réussite* tiennent surtout à l'époque à laquelle ont lieu les contaminations. Elles doivent être pratiquées quand les criquets ont 15 à 20 jours. Plus tôt, ils mangent peu et se contaminent peu ; ils ne se contaminent même pas du tout par les bouillons ; plus tard, c'est le moment de la formation des colonnes et, par conséquent, du mélange de taches d'âge et de résistance différents, qui entraîne à brève échéance l'atténuation très rapide et parfois considérable de la virulence, et peut-être la production de souches de vaccinés qui immunisent autour d'eux, comme les premiers contaminent.

Lorsque les infestations sont faites à l'aide de criquets malades, il faut toujours se servir de criquets provenant d'un foyer primaire, c'est-à-dire contaminés directement et très largement par bouillon et éviter, autant que possible, de se servir de criquets récoltés dans des foyers secondaires ou tertiaires.

Résumé.

La méthode de d'Hérelle donne des résultats encourageants. En partant d'un coccobacille suffisamment exalté, on peut créer, soit par la pulvérisation des bouillons, soit par la contamination à l'aide de criquets malades, des épizooties très contagieuses et quelquefois très meurtrières, dont la marche est loin d'être foudroyante.

La constatation des résultats est chose très difficile. L'évolution de l'épizootie doit être surveillée par l'étude du pourcentage de la mortalité en cage, et non par l'étude de la morbidité.

La virulence du bacille de d'Hérelle nous semble très fugace et ses atténuations entraînent des échecs partiels, qui ne doivent cependant pas faire rejeter le procédé.

Malgré ses imperfections, il convient de prendre dès maintenant toutes les mesures utiles en vue de l'appliquer largement lors des nouvelles invasions de sauterelles, en le combinant judicieusement aux autres méthodes de destruction.

Il convient également de poursuivre l'expérimentation pour étudier d'une façon précise les variations de la virulence et ses causes (âge différent des criquets, nombreux passages par voie buccale, action du soleil sur la diarrhée, etc.), afin d'y remédier dans la mesure du possible.

Casablanca, le 15 août 1915.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1915

par Jules VIALA, Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1915, 654 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur : 3 sont mortes de la rage : chez une d'elles, la mort est survenue 10 jours après la fin du traitement : 1 autre a été prise de rage au cours du traitement, elles ne sont pas comptées parmi les traitées.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	654
Mort.	1
Mortalité, p. 100	0,15

Le tableau ci-dessous indique les résultats des vaccinations, depuis l'origine :

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2.671	25	0,94 p. 100
1887	2.770	14	0,79 —
1888	1.622	9	0,55 —
1889	1.830	7	0,38 —
1890	1.540	5	0,32 —
1891	1.559	4	0,25 —
1892	1.790	4	0,22 —
1893	1.648	6	0,36 —
1894	1.387	7	0,50 —
1895	1.520	5	0,38 —
1896	1.308	4	0,30 —
1897	1.529	6	0,39 —
1898	1.465	3	0,20 —
1899	1.614	4	0,25 —
1900	1.420	4	0,28 —
1901	1.321	5	0,38 —
1902	1.005	2	0,18 —
1903	628	2	0,32 —
1904	755	3	0,39 —
1905	721	3	0,41 —
1906	772	1	0,43 —
1907	786	3	0,38 —
1908	524	1	0,19 —
1909	467	1	0,21 —
1910	401	0	0,00 —
1911	341	1	0,29 —
1912	395	0	0,00 —
1913	330	0	0,00 —
1914	373	0	0,00 —
1915	654	1	0,15 —

*
* *

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux trois tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la rage chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage. Nous donnons ci-dessous la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1915 :

ANNÉE 1915	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Mort	Mortalité (p. 100)	Traités	Mort	Mortalité (p. 100)	Traités	Mort	Mortalité (p. 100)	Traités	Mort	Mortalité (p. 100)
Tableau A. . . .	18	0	0	37	1	2,8	32	0	0	87	1	1,1
Tableau B. . . .	38	0	0	164	0	0	99	0	0	301	0	0
Tableau C. . . .	10	0	0	114	0	0	142	0	0	266	0	0
	66			315	1	2,8	273			654	1	0,15

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

France	641
Belgique	13
	654

Répartition par départements des 641 Français traités.

Aisne	10	Mayenne	3
Aveyron	4	Meurthe-et-Moselle	10
Cantal	11	Meuse	12
Calvados	33	Morbihan	10
Charente-Inférieure	5	Nièvre	4
Corrèze	20	Nord	16
Creuse	6	Oise	15
Côtes-du-Nord	21	Orne	4
Dordogne	7	Pas-de-Calais	81
Doubs	7	Rhin (Haut-)	14
Eure	16	Saône (Haute-)	3
Finistère	4	Sarthe	2
Garonne	2	Seine-Inférieure	13
Ille-et-Vilaine	29	Seine-et-Oise	11
Indre-et-Loire	6	Seine	98
Loire-Inférieure	12	Sèvres (Deux-)	7
Loir-et-Cher	2	Somme	38
Lot	33	Tarn-et-Garonne	3
Maine-et-Loire	6	Vienne	4
Manche	39	Vienne (Haute-)	11
Marne	3	Vosges	6

Personne traitée, morte de la rage moins de 15 jours après le traitement.

Huet (Sidonie), vingt-six ans, demeurant à Fégréac (Loire-Inférieure), mordue à la main droite, par un chien reconnu enragé par M. Guilloury, médecin vétérinaire à Redon (Ille-et-Vilaine); le bulbe de ce chien, inoculé à des animaux, a donné la rage le 28e jour.

Huet (Sidonie) a été traitée du 6 au 23 juin. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 27 juin : morte à l'hôpital Pasteur, le 1er juillet.

Personne traitée, morte de la rage pendant le traitement.

Colin (Lucien), cinq ans, demeurant à Allonne (Oise), mordu le 18 décembre, 1 morsure pénétrante à la paupière inférieure

gauche, 1 autre morsure à la lèvre supérieure qui ont saigné, non cautérisées.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 13 janvier : mort à l'hôpital Pasteur, le 18 janvier.

Le même chien a mordu aussi gravement deux autres personnes, traitées à l'Institut Pasteur, et qui se portent bien.

Personne traitée, morte de la rage.

Escale (Georges), treize ans, demeurant à Tours (Indre-et-Loire), mordu le 30 octobre, 1 morsure face dorsale main droite, a saigné. Cautérisée à l'eau oxygénée 2 heures après.

Chien reconnu enragé par M. Vachmart, médecin vétérinaire à Tours; le bulbe de ce chien, inoculé à des animaux, a donné la rage le 25e jour.

Traité du 3 novembre au 17 novembre : mort le 1er janvier.

Nous comptons Georges Escale comme étant mort de rage, bien que le diagnostic du médecin traitant soit resté incertain.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Septembre. — N° 9.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 9

30e ANNÉE SEPTEMBRE 1916 N° 9

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

SUR LA DIGESTION INTRACELLULAIRE CHEZ LES PROTOZOAIRES (LA CIRCULATION DES VACUOLES DIGESTIVES)

par S. METALNIKOV

(Laboratoire Biologique de Petrograd.)

(Avec les Planches VIII et IX.)

I

Au cours de la digestion intracellulaire, comme on le sait, la cellule vivante englobe différentes matières nutritives et les digère à l'intérieur des cavités microscopiques, que l'on désigne sous le nom de vacuoles digestives. Ces vacuoles se forment à l'extrémité du pharynx de l'infusoire et circulent ensuite plus ou moins longtemps dans le protoplasme.

Ainsi que je l'ai montré dans un travail précédent (1), cette circulation des vacuoles dépend en grande partie du contenu des vacuoles. Les vacuoles renfermant des matières nutritives, des bactéries et des granules de blanc ou de jaune d'œuf, circulent 2 à 4 fois plus longtemps que les vacuoles renfermant des matières n'ayant pas de valeur nutritive (carmin, sépia, alumine, etc.).

(1) S. METALNIKOV, Contribution à l'étude de la digestion intracellulaire chez les Protozoaires. *Arch. de Zool. expér.*, 5e série, t. IX, 1911-12.

Le tableau ci-dessous présente les résultats comparatifs des expériences au cours desquelles les infusoires ont été nourris de matières nutritives et de matières n'ayant pas de valeur nutritive. La durée de la circulation des vacuoles a été déterminée de la manière suivante : les infusoires sont placés dans un verre de montre contenant l'émulsion de la matière à étudier; après un séjour de 3 à 5 minutes dans l'émulsion, lorsqu'il s'est formé une ou deux vacuoles, on place un certain nombre d'infusoires dans une goutte pendante d'une infusion de foin fraîche; dans ces conditions, la formation de vacuoles s'arrête et on peut observer la circulation des vacuoles du commencement jusqu'à la fin, c'est-à-dire jusqu'au moment où elles sont rejetées du corps de l'infusoire. On peut, dans ce cas, non seulement suivre facilement la voie parcourue par les vacuoles, mais déterminer aussi le temps qu'il faut à la vacuole pour parcourir ce trajet.

Durée de la circulation de diverses matières dans le corps de l'Infusoire.

	CULTURE A.	CULTURE B.
Jaune d'œuf	2 h. 11 m.	2 h. 20 m.
	2 h. 23 m.	3 h.
Blanc d'œuf.	2 h. 50 m.	3 h. 5 m.
	2 h. 45 m.	3 h. 20 m.
Lait.	1 h. 38 m.	2 h. 58 m.
	1 h. 47 m.	3 h. 10 m.
Bactéries (B. coli)	3 h.	4 h. 2 m.
	2 h. 36 m.	4 h.
Alumine.	45 m.	27 m.
	38 m.	18 m.
Carmin	57 m.	46 m.
	56 m.	50 m.
Soufre	16 m.	22 m.
	23 m.	13 m.
Sépia	1 h. 10 m.	1 h. 20 m.
	1 h. 58 m.	1 h. 8 m.

Ces expériences, reproduites plusieurs fois par moi et par M. M. Galadjier, ont donné toujours les mêmes résultats. Elles montrent ainsi, d'une manière indubitable, que la circulation des vacuoles est réglée par la cellule comme si cette cellule avait en vue des fins utiles.

Les matières utiles qui sont bien digérées, comme l'albu-

mine et les bactéries, restent dans le corps de l'infusoire durant plusieurs heures, jusqu'à leur digestion complète, tandis que les matières qui ne sont pas utiles restent dans le corps de l'infusoire 50, 40 minutes et même moins. Il est intéressant d'indiquer que les matières colorantes (carmin, sépia), qui contiennent probablement des matières albuminoïdes, restent dans le corps de l'infusoire 60 minutes et plus, tandis que les matières complètement indigestes, comme l'alumine, le soufre, le verre, ne restent que 30, 20 et même 15 minutes.

On peut comparer ce phénomène à la diarrhée chez les animaux supérieurs, chez lesquels, comme on le sait, l'introduction dans l'intestin des matières qui ne sont pas digérées, ou de matières nuisibles, provoque un mouvement péristaltique accentué de l'intestin et une élimination plus rapide, hors de l'intestin, des matières nuisibles et même indifférentes. Le même but est atteint chez les unicellulaires par le mouvement des vacuoles digestives et leur expulsion plus rapide hors du protoplasme.

Si la circulation des vacuoles digestives dans la cellule est provoquée par le mouvement du protoplasme, on peut se demander par quel mécanisme est réglée leur circulation. Pourquoi se meuvent-elles dans un cas plus vite et dans d'autres cas plus lentement? Pourquoi certaines vacuoles parcourent-elles le trajet, du pharynx jusqu'à l'ouverture par laquelle elles sont rejetées, en plusieurs heures, tandis que d'autres font le même trajet en 15 à 20 minutes?

Pour élucider ces questions, j'ai fait une série d'expériences.

II

Il fallait tout d'abord reconnaître comment se meuvent les vacuoles. Il fallait voir si les vacuoles se meuvent dans le protoplasme toujours suivant la même voie, ou si la voie dépend de la matière remplissant les vacuoles. La voie parcourue par les vacuoles digestives dans le corps des *Paramæcium* a été décrite d'une manière détaillée par Nirenstein (1) et ensuite par moi.

(1) E. Nirenstein, Beiträge zur Ernährungs-Physiologie der Protisten. *Z. f. allg. Physiol.*, Bd V.

La figure 1, ci-dessous, représente cette voie. La vacuole digestive se sépare du pharynx, descend d'abord, puis remonte. Avant d'atteindre le noyau, qui se trouve, comme on le sait, au milieu du corps chez les *Paramæcium*, la vacuole descend de nouveau. La vacuole parcourt ainsi un petit cercle dans la partie du corps qui se trouve sous le noyau. Il faut noter que cette voie ne présente pas toujours un cercle régulier, comme nous le voyons sur la figure. Dans beaucoup de cas, la vacuole se meut en ligne directe du haut en bas et du bas en haut. Le mouvement n'est pas régulier : tantôt la vacuole se meut rapidement, tantôt lentement. Parfois elle s'arrête tout à fait. Après avoir séjourné quelque temps dans la partie qui se trouve sous le noyau, la vacuole commence à monter, s'élève au-dessus du noyau et atteint la partie extrême antérieure de l'infusoire, puis elle descend de nouveau, passe de l'autre côté du noyau, s'approche et est rejetée par l'infusoire.

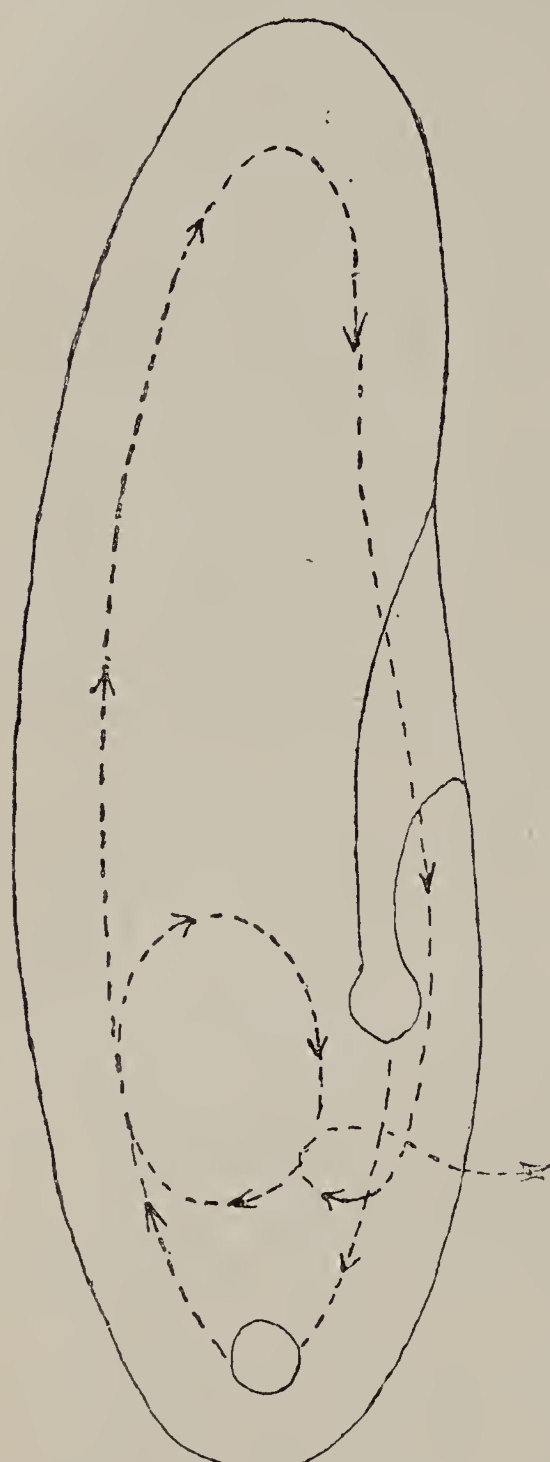


Fig. 1. — Trajet parcouru par les vacuoles digestives, chez des paramécies.

Tel est le trajet parcouru par la vacuole lorsqu'elle renferme une matière nutritive : granules de jaune ou de blanc d'œuf ou bien bactéries. Il faut encore indiquer que la même vacuole tourne autour du noyau non seulement une fois, mais deux, trois et quatre fois.

Il est intéressant de noter que le mouvement des vacuoles dans le corps de l'infusoire, leurs arrêts à des endroits déterminés et la durée de leur séjour dans le corps de l'infusoire, du commencement de leur formation jusqu'à leur expulsion, sont très variables; les choses se passent comme si chaque

vacuole avait son individualité. Certaines vacuoles circulent plus vite, d'autres plus lentement et quelquefois s'arrêtent en divers endroits, pour un temps plus ou moins long; certaines vacuoles parcourent tout le trajet en 20 à 30 minutes, tandis que d'autres séjournent dans le corps de l'infusoire de 3 à 4 heures.

CIRCULATION DES VACUOLES RENFERMANT DES MATIÈRES NUTRITIVES.

EXPÉRIENCE I. — A 10 h. 30 minutes, on a donné au *Paramæcium* du *jaune d'œuf*; 5 minutes après, lorsqu'il s'est formé 3 vacuoles, les infusoires ont été transportés dans une infusion de foin fraîche. La circulation des vacuoles a été observée sous le microscope; elle est présentée planche VIII, figure 1.

11 h. 30 m., commencement de l'expérience.
11 h. 35 m., formation de 3 vacuoles.
2 h. 28 m., 1 vacuole a été rejetée.
2 h., 2 vacuoles ont été rejetées.
2 h. 40 m., 3 vacuoles ont été rejetées.

On a fait des expériences analogues en se servant d'autres matières nutritives.

EXPÉRIENCE II. — Les infusoires ont reçu comme nourriture des *bactéries Sarcina*; 5 minutes après, lorsqu'il s'est formé plusieurs vacuoles, les infusoires ont été transportés dans une infusion de foin fraîche.

4 h., commencement de l'expérience.
4 h. 5 m., formation de 2 vacuoles.
6 h. 50 m., 1 vacuole est rejetée.
7 h. 5 m., 2 vacuoles sont rejetées.

Les vacuoles ont ainsi circulé pendant 3 heures. Le trajet qu'elles ont fait est à peu près le même que dans les expériences avec le jaune d'œuf.

EXPÉRIENCE III. — Dans cette série, des *bactéries* différentes ont servi de nourriture.

12 h. 56 m., commencement de l'expérience.
1 h., formation de 2 vacuoles.
3 h. 2 m., 1 vacuole est rejetée.
3 h. 30 m., 2 vacuoles sont rejetées.

Une vacuole a ainsi circulé pendant 2 h. 6 minutes et l'autre durant 2 h. 32 minutes.

Le trajet que ces vacuoles ont fait a été à peu près le même que dans les expériences avec le jaune d'œuf (un petit cercle dans la partie du corps de l'infusoire située sous le noyau et un grand cercle).

Circulation des vacuoles renfermant des matières n'ayant pas de valeur nutritive.

Expérience IV. — Dans cette série les infusoires ont été nourris de *bleu de Prusse.*

5 minutes après le commencement de l'expérience, lorsqu'il s'est formé plusieurs vacuoles, les infusoires ont été transportés dans une infusion de foin fraîche. Il faut noter que, lorsque les infusoires sont nourris de couleurs d'aquarelle, il se forme de grandes vacuoles dont les dimensions sont plusieurs fois celles des vacuoles normales. Mais les grandes parties de ces vacuoles ne montent pas ordinairement au-dessus du noyau, elles restent toujours en bas et sont rejetées peu de temps après leur formation. Parfois cette expulsion se fait par parties. Une moitié de la vacuole est rejetée d'abord, ensuite la deuxième moitié (planche VIII, fig. 2). J'ai fait des expériences analogues avec d'autres couleurs d'aquarelle. Certaines couleurs, par exemple, la couleur verte, sont très toxiques. Les infusoires les englobent, forment des vacuoles et périssent ensuite assez rapidement. D'autres matières colorantes (sépia, encre de Chine, etc.), au contraire, ne sont pas toxiques et circulent bien dans le corps de l'infusoire; mais, de même que le bleu de Prusse, elles restent peu de temps dans le corps de l'infusoire.

Expérience V. — Les infusoires ont été gardés pendant 3 minutes dans une émulsion de *sépia* d'aquarelle et transportés ensuite, après la formation de 1 vacuole, dans une infusion de foin fraîche (planche VIII, fig. 3).

11 h. 50 m., commencement de l'expérience.
11 h. 53 m., formation d'une vacuole.
12 h. 7 m., 1 vacuole est rejetée (17 minutes après le commencement de l'expérience).

Comme le montre la figure 4, la vacuole digestive n'a pas pénétré dans la partie antérieure de la cellule, elle est rejetée au bout de peu de temps.

En se basant sur ces observations, on pourrait conclure que les vacuoles renfermant des matières colorantes ne montent pas dans la partie de la cellule qui se trouve au-dessus du noyau, ce qui a comme suite le fait que les vacuoles sont si tôt rejetées du corps de l'infusoire. Mais cette conclusion n'est pas conforme à la réalité.

Dans les cas où les infusoires sont nourris d'autres matières colorantes et de matières qui n'ont pas de valeur nutritive, les vacuoles circulent très bien autour du noyau et montent dans la partie qui se trouve au-dessus du noyau, comme cela a été constaté dans les expériences où les infusoires ont été nourris de jaune d'œuf et de bactéries.

Expérience VI. — Les infusoires ont été placés dans une émulsion d'alumine; après la formation de 2 à 3 vacuoles ils ont été transportés dans une infusion de foin fraîche (planche IX, fig. 4).

12 h. 25 m.,	commencement de l'expérience.
12 h. 30 m.,	4 vacuoles se sont formées.
12 h. 50 m.,	1 vacuole a été rejetée (25 minutes après la formation).
1 h.,	2 vacuoles ont été rejetées (38 minutes après la formation).
1 h. 3 m.,	3 vacuoles ont été rejetées (38 minutes après la formation).
1 h. 7 m.,	4 vacuoles ont été rejetées (42 minutes après la formation).

Il suit de ces expériences que les vacuoles d'alumine circulent dans le corps de l'infusoire de la même manière que les vacuoles renfermant des matières nutritives, c'est-à-dire qu'elles parcourent la même longue voie autour du noyau.

Dans d'autres expériences que je ne cite pas ici, les vacuoles d'alumine ont circulé encore plus vite, leur expulsion du corps de l'infusoire avait lieu 15, 20, 25 minutes après leur formation. Il était de même lorsque les infusoires furent nourris de carmin, d'encre de Chine, de charbon et d'autres matières n'ayant pas de valeur nutritive.

Les vacuoles renfermant du carmin ou de l'encre de Chine circulaient dans le corps de l'infusoire plus longtemps que les vacuoles d'alumine, mais elles ne restèrent pas dans le corps de l'infusoire aussi longtemps que les vacuoles renfermant du jaune d'œuf ou des bactéries.

A ce point de vue, les expériences dans lesquelles les infusoires furent nourris d'amidon et d'amidon iodé, présentent un intérêt particulier.

Les infusoires englobent volontiers de l'amidon et les vacuoles renfermant de l'amidon circulent dans le corps des infusoires durant 2 heures, tandis que l'amidon iodé est rejeté 15 à 25 minutes après son englobement.

Il suit de ces expériences d'une manière indubitable que dans les cas où une matière quelconque est englobée et se trouve dans une vacuole les infusoires peuvent distinguer une matière utile d'une matière indifférente ou nuisible.

Tandis que les matières utiles restent dans le corps de l'infusoire et y circulent durant des heures, les matières indifférentes ou nuisibles sont rejetées très vite du corps de l'infusoire. Si les vacuoles circulent longtemps, elles font, comme nous l'avons vu plus haut, la longue voie autour du noyau

une ou plusieurs fois. Il faut encore ajouter que ces vacuoles s'arrêtent à divers endroits du corps de l'infusoire.

Les vacuoles renfermant des matières colorantes ou des matières n'ayant pas de valeur nutritive ne circulent que rarement autour du noyau, elles sont pour la plupart rejetées aussitôt après leur formation.

Les vacuoles de cette catégorie qui circulent autour du noyau (vacuoles d'alumine, de carmin, etc.) se meuvent avec beaucoup plus de rapidité que les vacuoles renfermant des matières nutritives. Si nous avons ici affaire à un phénomène qui se répète régulièrement, il montre que la vitesse du mouvement des vacuoles dépend dans une certaine mesure du contenu de la vacuole. Les vacuoles renfermant des matières ayant une valeur nutritive se déplacent plus lentement que les vacuoles renfermant des matières n'ayant pas de valeur nutritive.

A ce point de vue un intérêt particulier s'attache aux expériences dans lesquelles les infusoires ont été nourris de différentes matières, où il se formait simultanément des vacuoles renfermant des matières nutritives et des vacuoles renfermant des matières n'ayant pas de valeur nutritive.

Circulation des vacuoles renfermant des matières différentes.

Expérience VII. — A 3 h. 5 minutes des infusoires sont placés dans une émulsion de blanc d'œuf coloré de rouge du Congo; 5 minutes après, lorsqu'il s'est formé 2 vacuoles (planche IX, fig. 5), les infusoires sont transportés d'abord dans une infusion fraîche de foin et puis dans une émulsion d'alumine. A 3 h. 15 minutes, lorsque deux vacuoles d'alumine se sont formées, les infusoires sont de nouveau transportés dans une goutte d'infusion de foin fraîche. La circulation des vacuoles a été ensuite observée sous le microscope, leur position a été notée toutes les cinq minutes. Les vacuoles d'alumine sont marquées par des points bleus, les vacuoles de blanc d'œuf par des points rouges.

La figure 5 (pl. IX) présente le déplacement des vacuoles d'alumine et de blanc d'œuf.

A 3 h. 15 minutes toutes les vacuoles se trouvent dans la partie inférieure de l'infusoire, on voit que les vacuoles de blanc d'œuf qui se sont formées plus tôt se trouvent en avant. A 3 h. 20 minutes toutes les vacuoles se sont déplacées vers le milieu de l'infusoire, elles se trouvent au niveau du noyau, et les vacuoles d'alumine commencent à devancer peu à peu les vacuoles de blanc d'œuf. A 3 h. 25 minutes les deux vacuoles d'alumine ont déjà devancé une vacuole renfermant du blanc d'œuf. Observant sous le microscope cette course de vacuoles, j'ai vu comment la vacuole d'alumine

s'approche de la vacuole renfermant du blanc d'œuf de telle manière que les deux vacuoles se touchent l'une l'autre. Un moment après la vacuole d'alumine s'avance rapidement et devance la vacuole renfermant du blanc d'œuf. A 3 h. 52 minutes, c'est-à-dire 42 minutes après l'introduction des infusoires dans l'émulsion d'alumine, la première vacuole d'alumine a été rejetée. A 4 heures, c'est-à-dire 50 minutes après, les deux vacuoles d'alumine ont été rejetées.

Les vacuoles renfermant du blanc d'œuf ont séjourné plus longtemps dans le corps de l'infusoire. La première vacuole a été rejetée à 5 h. 25 minutes, c'est-à-dire 2 h. 30 minutes après le placement des infusoires dans l'émulsion de blanc d'œuf; la deuxième vacuole n'a été rejetée que 3 heures après.

Des expériences analogues, dans lesquelles on s'est servi de différentes matières, ont été répétées plusieurs fois par moi et par M. M. Galadjier.

Expérience VIII. — A 4 h. 10 minutes, les infusoires ont reçu une émulsion de sarcines mélangée de rouge du Congo. Lorsque 2 vacuoles se furent formées, les infusoires ont été transportés dans une infusion de foin fraîche. A 7 h. 40 minutes, on a donné aux infusoires de l'alumine.

A 4 h. 10 minutes les infusoires ont reçu des bactéries. A 4 h. 20 minutes, ils ont été placés dans une émulsion d'alumine.

6 h., 1 vacuole d'alumine est rejetée (en 1 h. 20 m.).
6 h. 10 m., 2 vacuoles d'alumine sont rejetées (en 1 h. 30 m.).
6 h. 22 m., 3 vacuoles d'alumine sont rejetées (en 1 h. 42 m.).
6 h. 54 m., 1 vacuole renfermant des bactéries est rejetée (en 2 h. 44 m.).
7 h. 35 m., 2 vacuoles renfermant des bactéries sont rejetées (en 3 h. 25 m.).

Expérience IX. — A 10 h. 50 minutes, on a donné aux infusoires des levures; 5 minutes après 3 vacuoles se sont formées.

A 11 h., on a donné du bleu de Prusse, 4 vacuoles se sont formées.

La première vacuole de bleu de Prusse a été rejetée à 11 h. 23 minutes (en 23 minutes), la deuxième à 11 h. 24 minutes (en 24 minutes), la troisième à 11 h. 28 minutes (en 28 minutes), la quatrième à 11 h. 33 minutes (en 33 minutes).

La première vacuole renfermant des levures a été rejetée à 12 h. 13 minutes (en 1 h. 23 minutes), la deuxième à 12 h. 17 minutes (en 1 h. 27 minutes) et la dernière à 12 h. 24 minutes (en 1 h. 34 minutes).

De quatre vacuoles de bleu de Prusse, trois n'ont pas circulé autour du noyau et sont restées tout le temps dans la partie inférieure de la cellule, tandis que la quatrième a suivi dans son mouvement les vacuoles renfermant des levures et les a devancées de la même manière que les vacuoles d'alumine.

Toutes ces expériences montrent que les mouvements ainsi que le parcours des vacuoles dépendent du contenu de la cellule.

III

Ces expériences soulèvent de grandes difficultés en ce qui concerne l'intelligence du mécanisme de la circulation des vacuoles digestives.

Suivant la doctrine courante la circulation des vacuoles s'explique par le fait que les vacuoles sont entraînées par le mouvement du protoplasme.

Mais comment peut-on expliquer dans ce cas le fait que les vacuoles se meuvent avec des vitesses différentes, qu'elles devancent les unes les autres, qu'elles s'arrêtent tandis que les vacuoles voisines continuent à circuler, qu'elles parcourent une ou plusieurs fois le même trajet. Comment concilier la vieille explication avec tous ces faits qui ne présentent pas de phénomènes accidentels et qui montrent qu'il existe un lien régulier entre la circulation des vacuoles et la nature de la matière renfermée dans la vacuole?

On pourrait supposer qu'il existe des courants différents du protoplasme se mouvant avec les vitesses différentes et que tout dépend de la position accidentelle de la vacuole : si cette dernière est entraînée par un courant ayant une vitesse plus grande, elle parcourt un trajet déterminé pendant un intervalle plus court.

Pour élucider toutes ces questions, il fallait tout d'abord déterminer comment se meut le protoplasme dans le corps de l'infusoire et s'il existe des courants différents se mouvant avec des vitesses différentes.

Vu le fait que les infusoires changent souvent de position et tournent autour de l'axe de leur corps, l'étude du mouvement du protoplasme présente de grandes difficultés.

On facilite l'observation en ajoutant au liquide dans lequel on étudie les infusoires des fibres de coton, ce qui gêne les infusoires dans leurs mouvements.

Le mouvement du protoplasme chez les Paramécies ne se fait pas d'une manière régulière. Parfois on ne constate aucun mouvement durant plusieurs minutes. Ensuite le protoplasme commence à se mouvoir. Je pensais d'abord qu'il existe un lien étroit entre le mouvement du protoplasme et la forma-

tion de nouvelles vacuoles à l'extrémité du pharynx; on pouvait supposer que, s'il y a bien une formation des vacuoles, le protoplasme se meut et que, s'il n'y a pas de formation des vacuoles, le protoplasme ne se meut pas.

Il y a des cas où j'ai pu constater ce lien. Mais j'ai vu ensuite qu'il n'existe pas ici de lien obligatoire. J'ai observé souvent

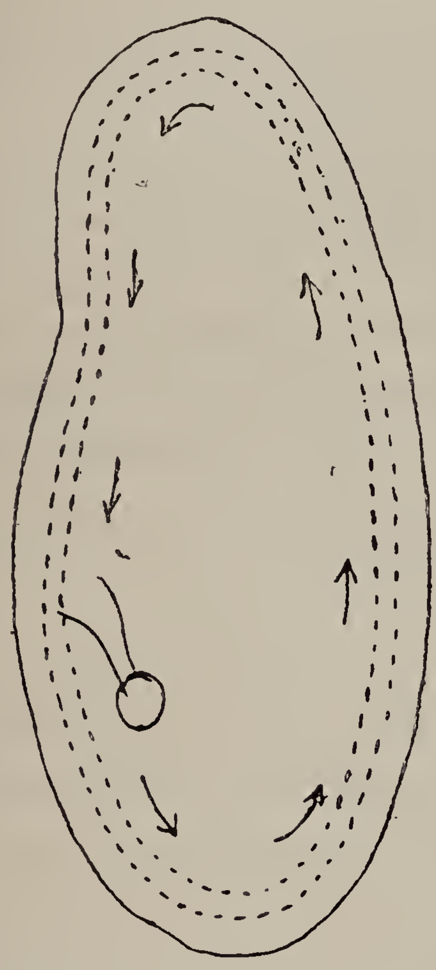


Fig. 2. — La circulation du protoplasme dans le corps de l'infusoire, lorsque l'orifice buccal se trouve à droite.

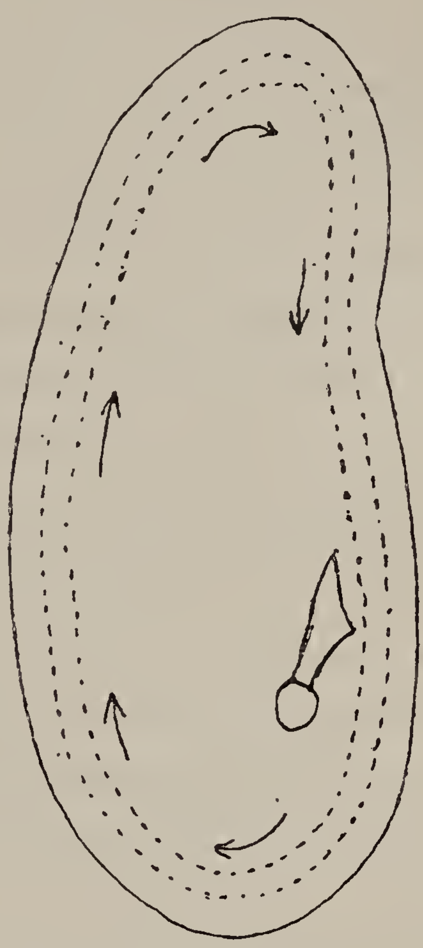


Fig. 3. — La circulation du protoplasme dans le corps de l'infusoire, lorsque l'orifice buccal se trouve à gauche.

le mouvement du protoplasme dans des cas où il n'y avait pas de formation de vacuoles.

Le trajet parcouru par le courant du protoplasme est toujours le même. Si le corps de l'infusoire est placé de telle manière que son orifice buccal se trouve à droite, le protoplasme se meut dans le sens du mouvement des aiguilles d'une montre (fig. 2). Si l'infusoire se retourne et que son orifice buccal se trouve à gauche, le mouvement du protoplasme *a lieu* en sens inverse (fig. 3). L'espace où ce mouvement a lieu est très limité.

Seule, une bande étroite du protoplasme qui longe la paroi

de la cellule est emportée par le courant protoplasmique. Les parties internes de la cellule ne prennent pas part à ce mouvement. Ici se trouvent des structures immobiles ou les organes constants de la cellule qui sont fixés dans des parties déterminées de la cellule. Au nombre de ces organes constants figurent le macro- et le micronucleus et aussi les vacuoles contractiles avec leurs canaux.

Tous ces organes, malgré qu'ils se trouvent dans un protoplasme demi-liquide, ont une position constante dans la cellule. Nous arrivons ainsi à la supposition *a priori* de l'existence d'un squelette interne, grâce auquel ces organes gardent une position fixe.

Si cette supposition est conforme à la réalité, l'espace dans lequel se meut le protoplasme demi-liquide doit être limité. En effet, ainsi que nous l'avons vu plus haut, le protoplasme se meut seulement dans la partie de la cellule qui touche la paroi de celle-ci, tandis que les parties intérieures de la cellule ne prennent pas part à ce mouvement. Je n'ai pas pu constater de courants divers se mouvant avec des vitesses différentes. Il fallait encore élucider le problème de savoir si les vacuoles digestives sont seulement entraînées par le protoplasme ou si elles circulent indépendamment du mouvement du protoplasme.

L'observation directe montre que les vacuoles se déplacent avec le protoplasme comme si elles étaient entraînées par ce dernier, mais à côté de ce phénomène il existe indubitablement un autre mécanisme qui joue un rôle dans la circulation des vacuoles. Il arrive souvent que la vacuole qui se déplace avec le protoplasme est rejetée en dehors du courant protoplasmique et reste immobile tandis que le courant du protoplasme continue à circuler. Peu de temps après, la vacuole est de nouveau déplacée, emportée par le courant protoplasmique et transportée à une certaine distance. Ce sont ces arrêts temporaires qui font qu'une vacuole se déplace plus rapidement qu'une autre, qu'une vacuole devance l'autre, comme je l'ai indiqué plus haut.

Ce qu'il y a de plus frappant dans tout cela est le fait que ces déplacements des vacuoles, leurs arrêts temporaires, puis leurs nouveaux déplacements ne présentent pas de phénomènes

accidentels, mais sont réglés par la cellule en vue de fins utiles.

Nous avons vu que les vacuoles renfermant des matières indifférentes et nuisibles se déplacent plus rapidement et sont rejetées plus vite, tandis que les matières utiles restent et circulent dans la cellule durant des heures.

Comment tout cela est-il réglé? Par quel mécanisme la cellule repousse et attire-t-elle les vacuoles digestives dans le courant du protoplasme, comment dirige-t-elle les mouvements de ces vacuoles? Nous ne pouvons pas malheureusement répondre à toutes ces questions. Il nous est impossible d'élucider ces problèmes, surtout parce que nous ne connaissons pas la structure interne de la cellule vivante, parce que nous ne connaissons pas les organes fixes et les mécanismes qui dirigent les mouvements des vacuoles contractées et la circulation du protoplasme lui-même.

Influence des conditions extérieures sur le mouvement des vacuoles digestives.

En étudiant le mouvement des vacuoles digestives chez divers infusoires, nous avons été frappé par la différence de la durée de la circulation des vacuoles chez des Paramæcies provenant de cultures différentes. Tandis que, chez la culture A les vacuoles de carmin circulent 50 à 60 minutes, chez la culture B les mêmes vacuoles de carmin circulent en moyenne beaucoup plus longtemps.

Ces observations montrent que les mouvements des vacuoles dans le corps de l'infusoire dépendent, à ce qu'il paraît, non seulement du contenu de la vacuole, mais encore d'autres conditions. Nos expériences ont en effet montré que la température, la composition chimique du milieu, etc. ont une influence sur la circulation des vacuoles.

Les premières expériences dans cette direction ont été faites par M. M. Galadjier (1), puis j'ai fait moi-même des expériences analogues.

Comme il fallait s'y attendre, la température a une grande influence sur la circulation des vacuoles. Aux températures basses

(1) M. Galadjier, Sur la nutrition des infusoires. *Bulletin du Laboratoire biologique de Petrograd*, vol. XII, 1912.

(au-dessous de 12°) de nouvelles vacuoles ne se forment et ne circulent qu'avec une extrême lenteur dans le corps de l'infusoire.

A la température ordinaire (18 à 19° C.), la formation des vacuoles marche plus vite, elles se meuvent aussi plus rapidement. A 30° la vitesse augmente encore. Le tableau ci-dessous résume les données concernant les vitesses de circulation des vacuoles digestives chez les Paramæcies à des températures différentes.

	CULTURE A.		CULTURE B.		CULTURE C.	
	30° C.	18° C.	30° C.	18° C.	30° C.	18° C.
Carmin.	38 m.	54 m.	1 h. 5 m.	1 h. 20 m.	40 m.	1 h. 10 m.
Soudan.	20 m.	26 m.	26 m.	38 m.	18 m.	26 m.
Jaune d'œuf.	4 h. 42 m.	4 h. 20 m.	2 h. 5 m.	2 h. 15 m.	2 h. 34 m.	3 h. 6 m.
Bactéries.	1 h. 59 m.	2 h. 2 m.	2 h. 18 m.	2 h. 29 m.	2 h. 2 m.	2 h.

Nous ne citons que les chiffres moyens résultant de nombreuses expériences. Ces chiffres montrent que la vitesse de la circulation des vacuoles à 30° n'augmente considérablement que dans le cas où les vacuoles renferment des matières n'ayant pas de valeur nutritive, comme le carmin ou le soudan. — Dans le cas où les infusoires sont nourris de jaune d'œuf ou de bactéries, les vacuoles digestives circulent avec la même vitesse à 18° et à 30°. L'augmentation de la température n'influence pas évidemment la vitesse de la digestion du jaune d'œuf ou des bactéries.

Il est intéressant d'indiquer que les vacuoles renfermant la même matière se meuvent avec des vitesses différentes chez les cultures différentes. Tandis que, chez les infusoires provenant de la culture A, les vacuoles de carmin circulent à 18° durant 54 minutes, chez les infusoires de la culture B, elles circulent durant 1 h. 20 m., et chez les infusoires de la culture C durant 1 h. 18 m.

Ces observations montrent que la vitesse de la circulation des vacuoles dépend non seulement du contenu des vacuoles et de la température, mais encore d'autres conditions.

L'ensemble de ces autres conditions ne peut être présenté que par le milieu liquide dans lequel vivent les infusoires. Mes expériences antérieures ont déjà montré que la composition chimique du milieu dans lequel se trouvent les infusoires exerce une influence très forte sur l'englobement de différentes matières et la formation des vacuoles digestives.

Les acides et d'autres matières additionnés en doses minimes au milieu stimulent la formation des vacuoles.

Au contraire, les alcalis non seulement n'ont pas augmenté le nombre des vacuoles formées, mais ont gêné la formation des vacuoles.

M. M. Galadjier (1) a fait dans cette direction des expériences afin d'étudier l'influence de différentes matières sur la durée de la circulation des vacuoles.

L'expérience se faisait sur deux portions de la même culture de l'infusoire. Une portion était lavée et les infusoires étaient placés dans un milieu liquide additionné d'une quantité déterminée de la matière à étudier; l'autre portion, placée dans le même milieu non additionné d'autres matières, servait de témoin. On a déterminé soigneusement la durée de la circulation des vacuoles dans les cas où les infusoires étaient nourris de carmin, de sépia, de jaune d'œuf ou de bactéries. Ces expériences ont montré que l'addition de doses minimes des différents acides (acides acétique, chlorhydrique, azotique entre 1/80.000 à 1/160.000), accélère considérablement la circulation des vacuoles digestives.

Des doses plus fortes d'acide gênent, au contraire, la circulation des vacuoles. L'action des alcalis est moins prononcée, c'est pourquoi on s'est servi dans ces expériences de solutions plus fortes (1/8.000 et au-dessous). Contrairement aux acides les alcalis pris à des doses minimes ne stimulent pas la circulation des vacuoles. Des doses plus fortes ont une action un peu gênante.

Influence des facteurs internes sur la circulation des vacuoles.

Les expériences décrites plus haut montrent que la circulation des vacuoles et la durée de la circulation dépendent d'abord du contenu des vacuoles et ensuite des conditions extérieures, c'est-à-dire de la température, du milieu, etc.

(1) Les chiffres cités ici sont extraits du travail intéressant de M. M. Galadjier.

Si les facteurs extérieurs déterminaient à eux seuls la durée et la vitesse de la circulation des vacuoles, on aurait dû obtenir les mêmes résultats dans tous les cas où les infusoires sont nourris de la même matière et où toutes les autres conditions extérieures restent les mêmes; dans tous ces cas les vacuoles devraient parcourir le même trajet, et la durée de la circulation devrait rester la même.

Mais on n'obtient jamais de pareils résultats identiques. Les infusoires provenant de cultures *A* et *B*, placés dans le même milieu et nourris de la même émulsion de carmin et de sépia présentent des différences au point de vue de la circulation du protoplasme (Cf. le tableau de la page 428).

Ces expériences, montrent déjà que la circulation des vacuoles dépend, à ce qu'il semble, non seulement du contenu des vacuoles, mais aussi des facteurs internes, propres aux infusoires de chaque culture.

Les expériences suivantes plaident aussi en faveur du rôle de ce facteur interne.

Le 10 janvier, j'ai versé, dans un vase renfermant des infusoires de la culture A, une émulsion de carmin.

J'ai déterminé en même temps la vitesse de la circulation des vacuoles de carmin.

J'ai obtenu les résultats suivants :

1er infusoire	1 h. 10 m.
2e infusoire	1 h. 20 m.
3e infusoire	1 h. 32 m.
4e infusoire	1 h. 5 m.
5e infusoire	1 h. 23 m.

Le 15 janvier, j'ai pris, à l'aide d'une pipette capillaire, plusieurs infusoires du vase renfermant du carmin, où les infusoires ont séjourné cinq jours. Les infusoires repêchés ont été transportés dans une infusion de foin fraîche. Une heure après, lorsque toutes ces vacuoles de carmin ont été rejetées, j'ai ajouté du carmin frais. Trois à quatre minutes plus tard, après formation de deux à trois nouvelles vacuoles renfermant du carmin, j'ai transporté de nouveau les infusoires dans une infusion fraîche de foin pour observer les vacuoles sous le microscope. Cette fois, j'ai obtenu les résultats suivants :

1er infusoire	25 minutes.
2e infusoire	28 minutes.
3e infusoire	23 minutes.
4e infusoire	35 minutes.
5e infusoire	30 minutes.

J'ai fait des expériences analogues en me servant de sépia. Le 15 janvier, j'ai obtenu les résultats suivants :

1er infusoire	1 h. 15 m.
2e infusoire	1 h. 18 m.
3e infusoire	1 h. 30 m.
4e infusoire	1 h. 10 m.
5e infusoire	1 h. 22 m.

Les infusoires ont été gardés ensuite sous une émulsion de sépia, durant une semaine. Le 22 janvier, j'ai, de nouveau, déterminé la vitesse de circulation des vacuoles. J'ai obtenu les résultats suivants :

1er infusoire	35 minutes.
2e infusoire	21 minutes.
3e infusoire	25 minutes.
4e infusoire	39 minutes.
5e infusoire	23 minutes.

On voit ainsi que, tandis qu'au commencement des expériences les vacuoles circulaient durant plus d'une heure, après un séjour de cinq journées dans l'émulsion, la durée de la circulation a diminué presque de deux fois.

Toutes les conditions de l'expérience ont été identiques dans les deux cas. L'émulsion de carmin et de sépia était la même. Il en était de même en ce qui concerne la température et le milieu liquide, mais les résultats ont changé, parce que les infusoires se comportent autrement par rapport au carmin et à la sépia, parce que le facteur interne duquel dépend la circulation des vacuoles digestives a changé.

J'ai fait des expériences dans cette direction il y a déjà quelques années. J'ai étudié au cours de ces expériences l'influence des matières nutritives sur la formation des vacuoles digestives chez les infusoires.

J'ai constaté que l'englobement de la nourriture et la formation des vacuoles dépendent des trois facteurs suivants : de la nature de la matière nutritive, des conditions extérieures et du facteur interne (manière dont l'infusoire se comporte par rapport à la matière donnée).

Si les infusoires sont nourris durant un temps assez long de la même matière, par exemple, de carmin, d'alumine, de sépia, la manière dont ils se comportent par rapport à la matière donnée change, même dans le cas où toutes les autres conditions restent les mêmes. Au début de l'expérience, il se forme chez l'infusoire, durant un intervalle de 30 minutes, 15 vacuoles

et plus. Mais ensuite le nombre de vacuoles diminue, et enfin, quelques jours plus tard, les infusoires n'englobent plus la matière donnée.

Ces expériences montrent ainsi, d'une manière indubitable, que la formation des vacuoles digestives dépend non seulement de la composition de la nourriture, non seulement des conditions extérieures, mais aussi de l'état intérieur de l'infusoire, ou, autrement dit, d'un certain facteur interne.

CONCLUSION

Toutes les expériences citées sur la circulation des vacuoles dans le corps de l'infusoire et sur l'englobement de la nourriture et la formation de nouvelles vacuoles montrent que la formation et la circulation des vacuoles dépendent de trois facteurs :

1° De la composition chimique de la matière englobée, c'est-à-dire des excitants spécifiques qui agissent sur le protoplasme de l'infusoire;

2° Du milieu extérieur dans lequel se trouve l'infusoire, c'est-à-dire de l'ensemble des excitants extérieurs qui agissent au moment donné sur le corps de l'infusoire;

3° De l'état intérieur de l'infusoire lui-même ou d'un certain facteur interne.

Mais quelle est la nature de ce facteur interne?

Il faut dire tout d'abord que ce facteur intérieur change constamment. En effet, l'expérience nous montre que toutes les conditions de l'expérience restant les mêmes, les résultats présentent des différences. Dans un cas, par exemple, lorsque les infusoires nourris de carmin ou de sépia forment en trente minutes 10 vacuoles, tandis que, dans un autre cas, il se forme 8 ou 9 vacuoles. Il est de même en ce qui concerne la circulation des vacuoles. J'ai déjà indiqué plus haut que chaque vacuole qui circule dans le corps de l'infusoire se comporte comme si elle avait son individualité.

La grandeur de la vacuole, le trajet qu'elle parcourt, ses arrêts dans le corps de l'infusoire et enfin le temps durant lequel elle circule peuvent varier. Il est vrai que les limites de ces variations sont déterminées par le milieu extérieur d'un

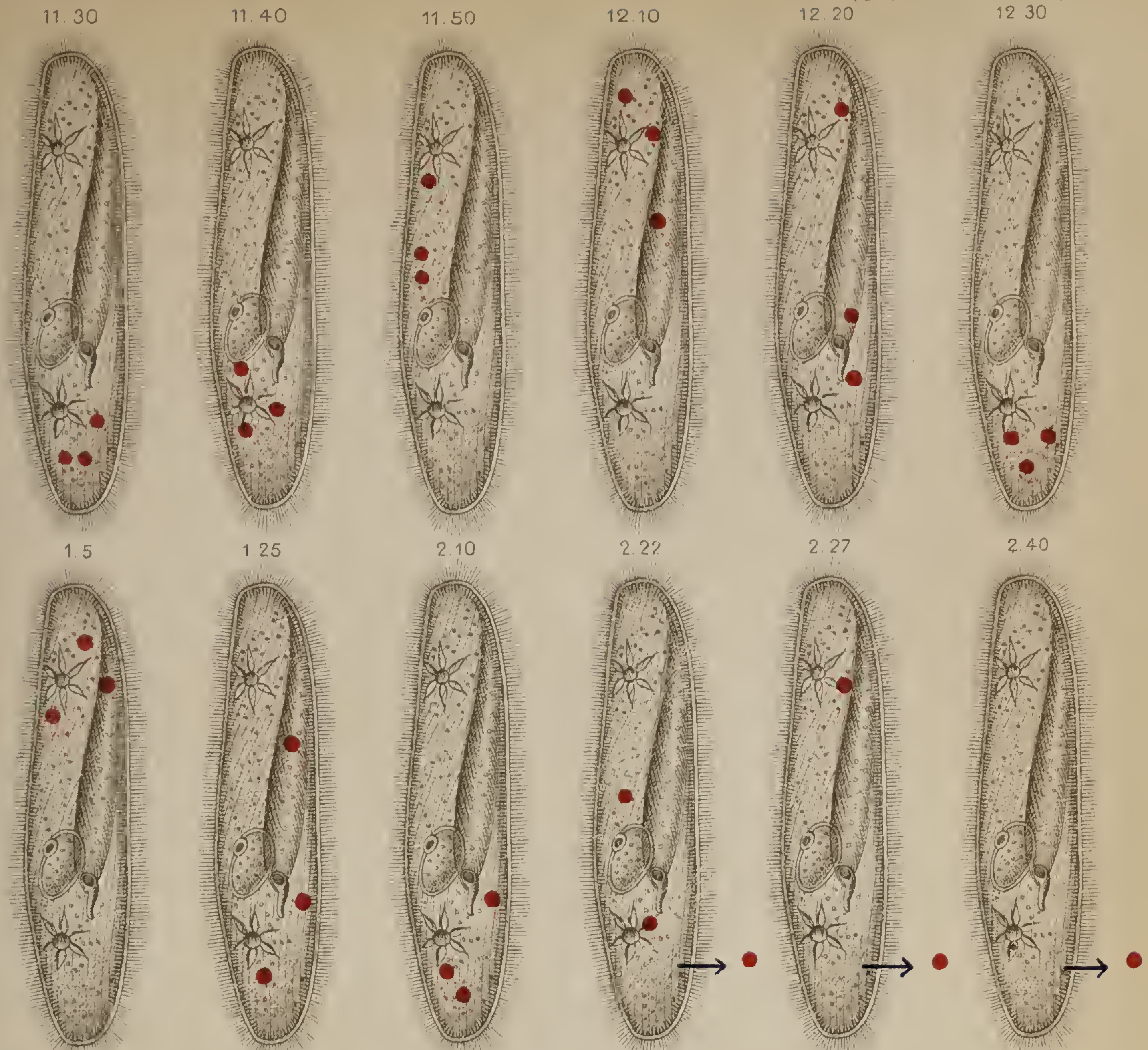


Fig. 1.



Fig. 2

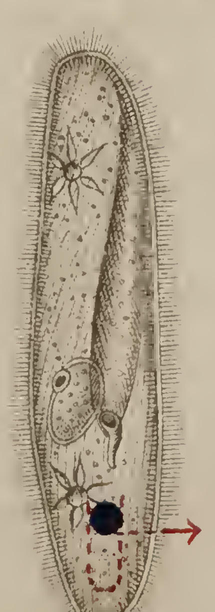


Fig. 3

Ch. Constantin Lith.

Imp. Lafontaine Paris.


12 30
12.40
12.45
12.50
12 52
12.54
12. 56
12 58
1
1.3
1.5
1.7

Fig. 4.

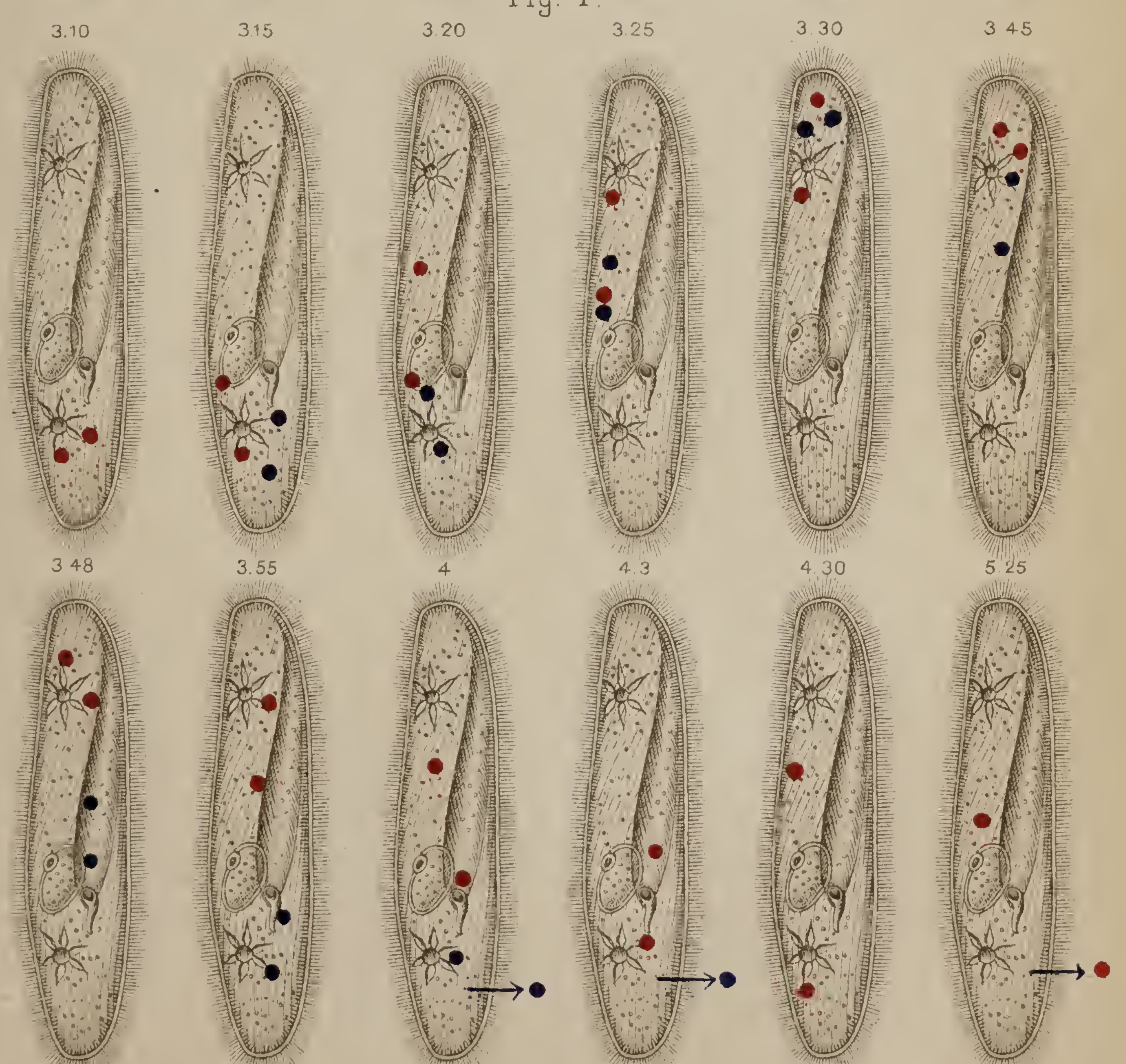

3.10
3.15
3.20
3.25
3.30
3 45
3 48
3.55
4
4.3
4.30
5.25

Fig. 5

côté et l'excitant spécifique de l'autre. Ainsi, lorsque les infusoires sont nourris de matières nutritives (jaune d'œuf, bactéries), la durée de la circulation varie de deux à quatre heures ; lorsqu'ils sont nourris de matières colorantes, la durée de la circulation varie de 20 à 60 minutes et plus. Enfin, chez le même infusoire, toutes les conditions restant les mêmes, une vacuole circule 20 minutes, une seconde 25, une troisième 18, quatrième 23, etc.

On peut ainsi conclure que l'état intérieur de l'infusoire ou le facteur intérieur qui gouverne et règle toutes les manifestations vitales présente une grandeur qui change constamment, qui varie constamment. Sous ce rapport, le facteur intérieur peut être considéré comme l'ensemble de propriétés intérieures qui déterminent toute individualité vivante, qu'elle soit une cellule vivante, une plante ou un animal supérieur.

Quelles que soient nos opinions théoriques, que nous soyons des mécanistes ou des vitalistes, nous devons également reconnaître que toute individualité vivante présente quelque chose qui change constamment. Chaque manifestation de l'organisme vivant, chaque moment de la vie, chaque mouvement, si minimes qu'ils soient, déterminent des changements dans toute la structure intérieure de la matière vivante et laissent une trace qui influence l'expérience intérieure ou le facteur intérieur qui détermine l'activité ultérieure de l'organisme vivant. Sous ce rapport, toute l'individualité vivante ne reste pas toujours la même malgré la constance apparente de la forme extérieure et de la structure intérieure.

L'organisme vivant change toutes les minutes, toutes les secondes.

Suivant M. Bergson, l'organisme vivant est un courant indivisible de changements dans lequel le passé se conserve et agit sur l'avenir. Dans un système pareil il n'y a pas de répétitions, chaque pas qu'il fait est un changement créateur, une invention. Un système pareil n'est pas un mécanisme composé de parties isolées qui ont existé auparavant indépendamment l'une de l'autre. Dans un système pareil, les parties sont conditionnées par le tout, mais la réciproque n'est pas vraie.

SUR LA PRÉPARATION
D'UN SÉRUM ANTIEXANTHÉMATIQUE EXPÉRIMENTAL
ET SES PREMIÈRES APPLICATIONS
AU TRAITEMENT DU TYPHUS DE L'HOMME

par CHARLES NICOLLE et LUDOVIC BLAIZOT

(de l'Institut Pasteur de Tunis.)

Le sérum sanguin des malades convalescents de typhus exanthématique et celui des animaux guéris de l'infection expérimentale présentent pendant quelques jours qui suivent la défervescence (du 6e au 10e de celle-ci) des propriétés préventives vis-à-vis de l'inoculation du virus et que nos recherches antérieures ont mises en évidence. Ces mêmes sérums sont dépourvus de propriétés curatives utilisables pour le traitement du typhus exanthématique déclaré, contrairement à l'espoir qu'avaient fait naître les essais déjà anciens de Reynaud (d'Alger) et de Legrain (de Bougie).

Notre ignorance des conditions de culture sur milieux artificiels du microbe inconnu du typhus rendait particulièrement ardu le problème de la préparation d'un sérum antiexanthématique expérimental. On n'y pouvait parvenir que par l'emploi du virus lui-même. La sensibilité du cobaye permet, nous l'avons montré, la conservation indéfinie de ce virus par passages, et nous avons reconnu récemment l'existence du virus dans tous les organes du cobaye infecté au cours de la fièvre.

L'inoculation répétée d'organes d'une espèce animale à une autre (dans le cas particulier, celle d'organes de cobaye au cheval ou à l'âne) semblait cependant une méthode difficilement applicable, en raison de la toxicité naturelle des tissus et du phénomène de l'anaphylaxie. Nous avons heureusement

constaté que des émulsions de rate ou de capsules surrénales de cobaye étaient parfaitement supportées par les équidés, même par voie intraveineuse et lorsqu'on en répète les inoculations. Or, la rate et les capsules surrénales sont parmi les organes les plus virulents chez le cobaye infecté de typhus.

Ces constatations rendaient l'hyperimmunisation de gros animaux possible. Nous l'avons réalisée chez un âne et un cheval.

PRÉPARATION DU SÉRUM

L'âne a reçu par voie veineuse successivement et à 3 jours en moyenne d'intervalle : d'abord, 3 inoculations du dépôt leucocytaire de 5 cent. cubes de sang de cobaye infecté; puis, 18 inoculations d'une émulsion de rate virulente broyée et centrifugée; ensuite, 22 inoculations d'une semblable émulsion, mais seulement broyée; enfin, à partir de la 41e injection, nous avons, d'une façon désormais régulière, inoculé à chaque séance le produit de broyage fin dans l'eau physiologique de la moitié d'une rate et d'une capsule surrénale entière (parfois la dose a été doublée).

En 14 mois environ, du 23 avril 1915, date à laquelle a commencé l'immunisation jusqu'à celle où nous écrivons (15 juin 1916), l'âne a subi ainsi 125 inoculations virulentes. Il a été saigné après les 30e, 60e, 80e, 99e, 105e et 115e.

Le cheval, dont le sérum n'a pas été utilisé jusqu'à ce jour (1), a subi par voie veineuse, du 3 août 1915 au 15 juin 1916, 91 inoculations du produit de broyage fin de la moitié d'une rate et d'une capsule surrénale de cobaye infecté.

Les inoculations ont eu lieu sans exception par voie veineuse; elles furent toutes supportées sans inconvénient. Les deux virus exanthématiques, que nous entretenons sur cobayes depuis plus de deux ans à l'Institut Pasteur de Tunis (*Virus I* d'origine algérienne, *Virus II* d'origine marocaine), ont été indifféremment et à peu près également employés, suivant le hasard des passages par cobayes et le nombre de ces animaux infectés au cours de nos diverses expériences.

(1) Sauf chez deux malades serbes (obs. XXX et XXXI).

Les saignées ont été pratiquées du 12e au 15e jour après la dernière inoculation de la série.

Nous avons pu nous rendre compte, par des essais qui seront ultérieurement publiés, qu'il était possible, moyennant certaines précautions indispensables, de faire supporter au cheval des inoculations de quantités infiniment plus élevées de matière virulente. Il y a donc lieu d'espérer que le sérum préparé par l'emploi de doses plus grandes de virus donnera, dans son application à l'homme, des résultats meilleurs que ceux déjà très favorables qui sont exposés plus loin.

ESSAI DU SÉRUM ANTIEXANTHÉMATIQUE SUR LES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE DÉMONSTRATION DE SES PROPRIÉTÉS PRÉVENTIVE ET CURATIVE

Nous n'avons utilisé dans ces expériences que le sérum de l'âne et seulement celui de la première et surtout de la seconde saignée (c'est-à-dire recueilli après 30 et 60 inoculations).

Ce sérum, en dehors des propriétés préventive et curative qu'il manifeste, présente, en raison de son mode de préparation, une haute toxicité pour le cobaye. Cette toxicité se traduit par la production d'œdèmes au point d'inoculation et par un amaigrissement notable, accompagné d'hypothermie et suivi de cachexie mortelle, dès qu'on élève la dose. Celle-ci ne peut dépasser impunément 1 cent. cube; il est même préférable de fractionner cette dose et de l'inoculer par quarts de cent. cube (en 4 jours).

Malgré la grande gêne apportée par cette toxicité, nous avons pu juger clairement sur le cobaye lui-même l'action efficace du sérum contre le virus; elle est double :

Pouvoir préventif.

Chez le singe, chez le cobaye, l'inoculation simultanée du virus dans la cavité péritonéale et du sérum sous la peau n'est suivie d'aucune élévation thermique, tandis que les témoins, inoculés du virus seul, contractent le typhus.

Cette conclusion ressort des expériences suivantes :

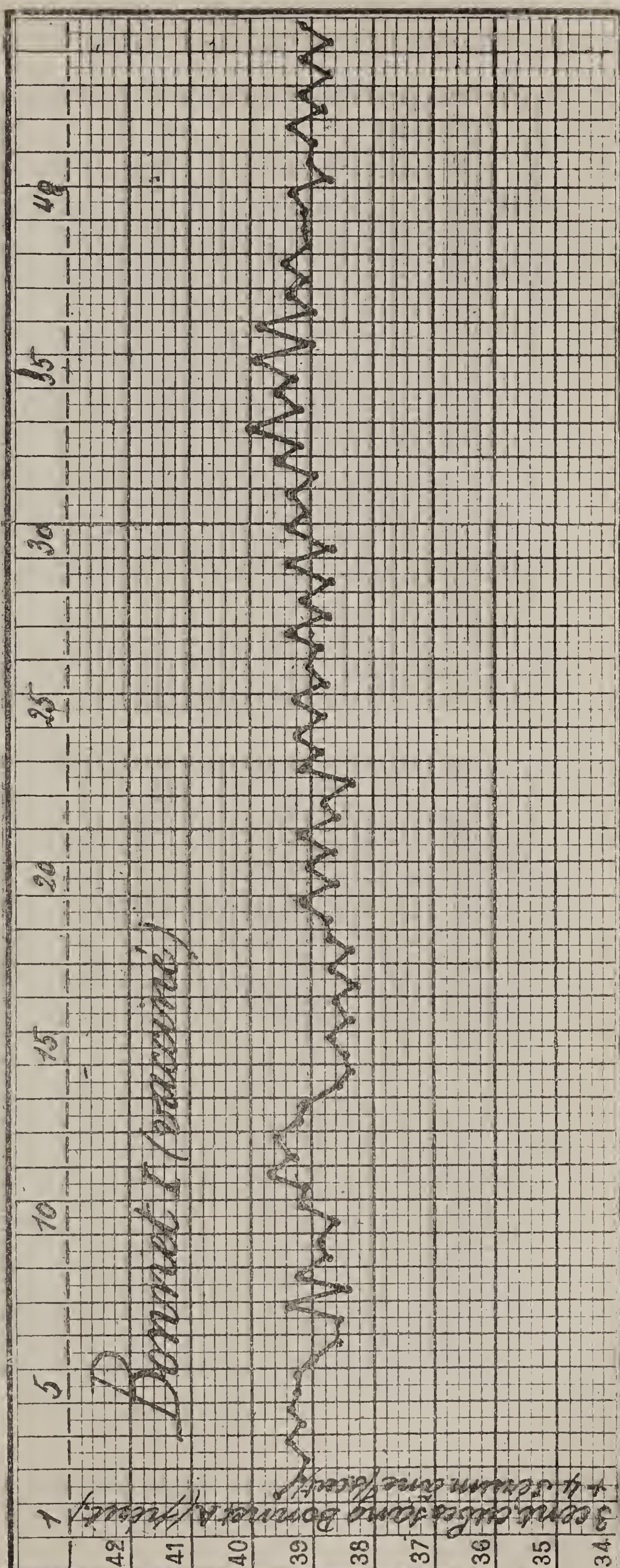
Expérience I. — Le 29 octobre 1915, nous inoculons les deux singes (bonnets chinois) I et II dans la cavité péritonéale avec une dose égale (3 cent. cubes) de sang du bonnet A, au 5e jour d'un typhus expérimental classique. (Le bonnet A avait été lui-même infecté avec le sang d'un cobaye de 42e passage (par cobayes de notre Virus II.)

En même temps, le bonnet I reçoit sous la peau 4 cent. cubes de notre sérum antiexanthématique d'âne (seconde saignée).

Le *bonnet I* (vacciné) n'a présenté à la suite aucune élévation thermique ; température prise pendant 45 jours (*Courbe 1*).

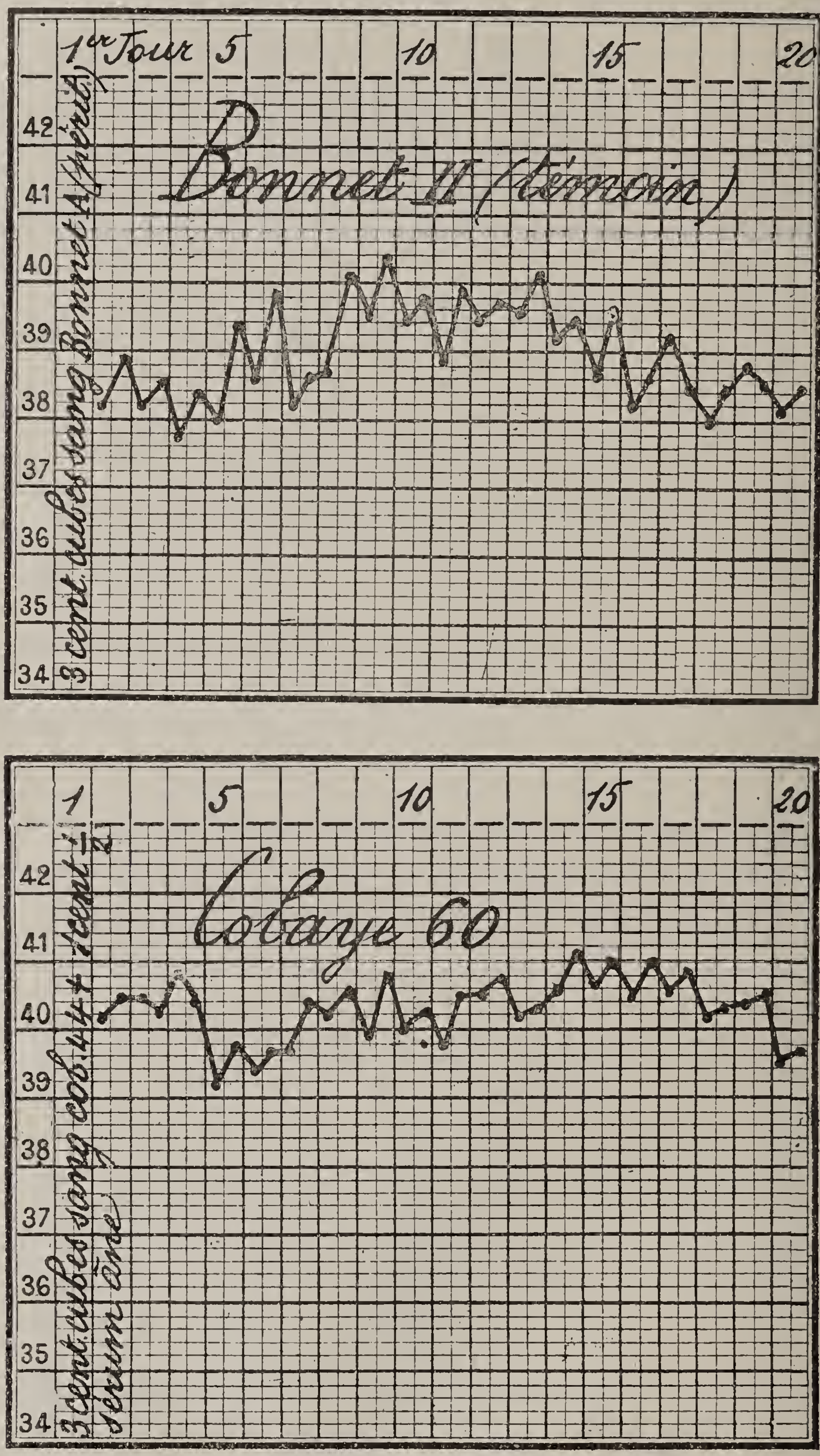
Le *bonnet II* (témoin), après une incubation de 5 jours, a été atteint d'un typhus expérimental grave, d'une durée de 11 jours (*Courbe 2*).

Expérience II. — Le 27 juillet, le *cobaye 60* reçoit dans la cavité péritonéale 3 cent. cubes de sang du cobaye 44 (3e passage cobayes, Virus II) et, en même temps, sous la peau,



Courbe 1.

1 cent. cube et demi du sérum antiexanthématique d'âne (première saignée).
Aux 5e et 6e jours, hypothermie due à l'action toxique du sérum; très légère



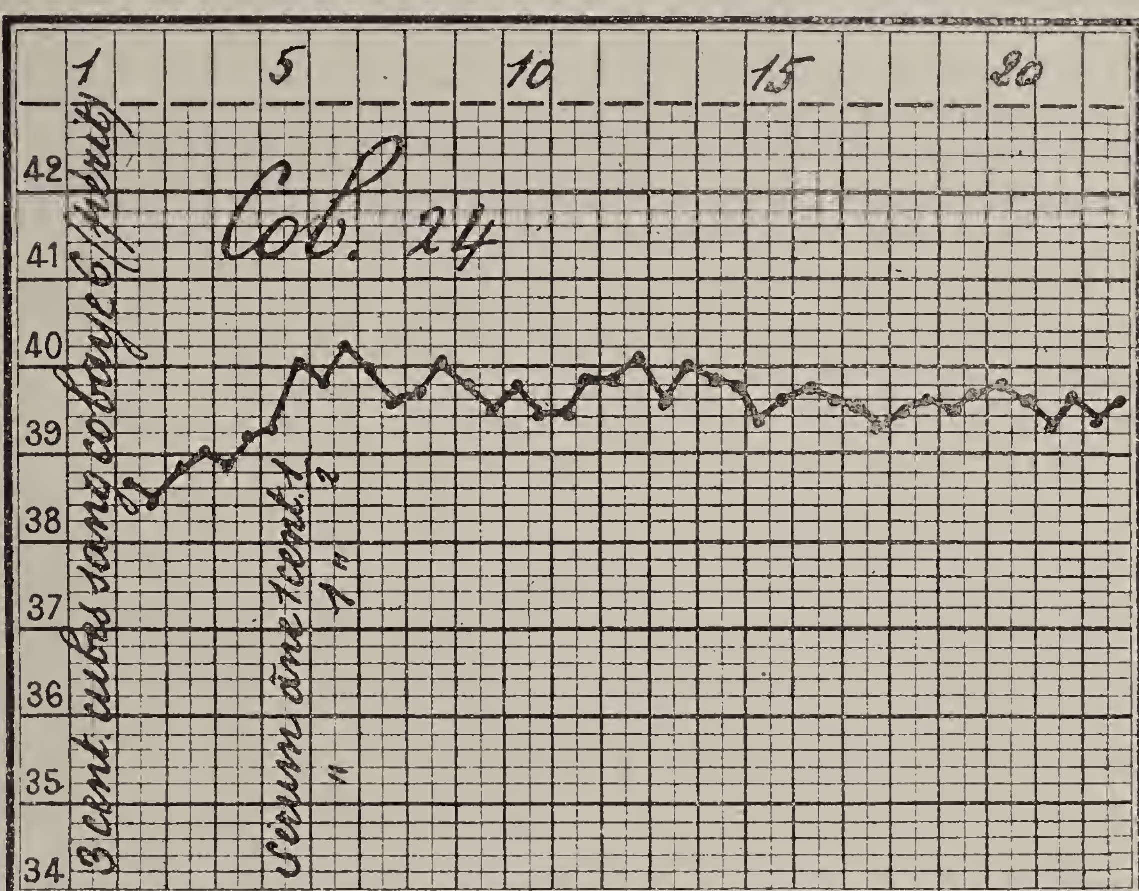
Courbes 2 et 3.

élévation thermométrique (typhus abortif?) du 14e au 17e jour. (*Courbe 3.*) Il s'agit d'un cobaye jeune, dont la température normale oscillait autour de 40°5.
Témoin positif.

Pouvoir curatif.

Les expériences, prouvant l'existence d'un pouvoir curatif, ont été, en raison de la disette de singes, réalisées seulement sur le cobaye.

Inoculé pendant l'incubation de la maladie ou le jour même de l'ascension thermique, le sérum s'oppose au développement de l'infection; inoculé au 1er ou 2e jour de celle-ci, il l'arrête brusquement; plus tard, action lente, douteuse ou nulle.



Courbe 4.

L'animal, chez lequel la maladie a été empêchée par l'inoculation précoce de sérum, ne présente ultérieurement aucune immunité, preuve indiscutable de la destruction du virus par les anticorps du sérum.

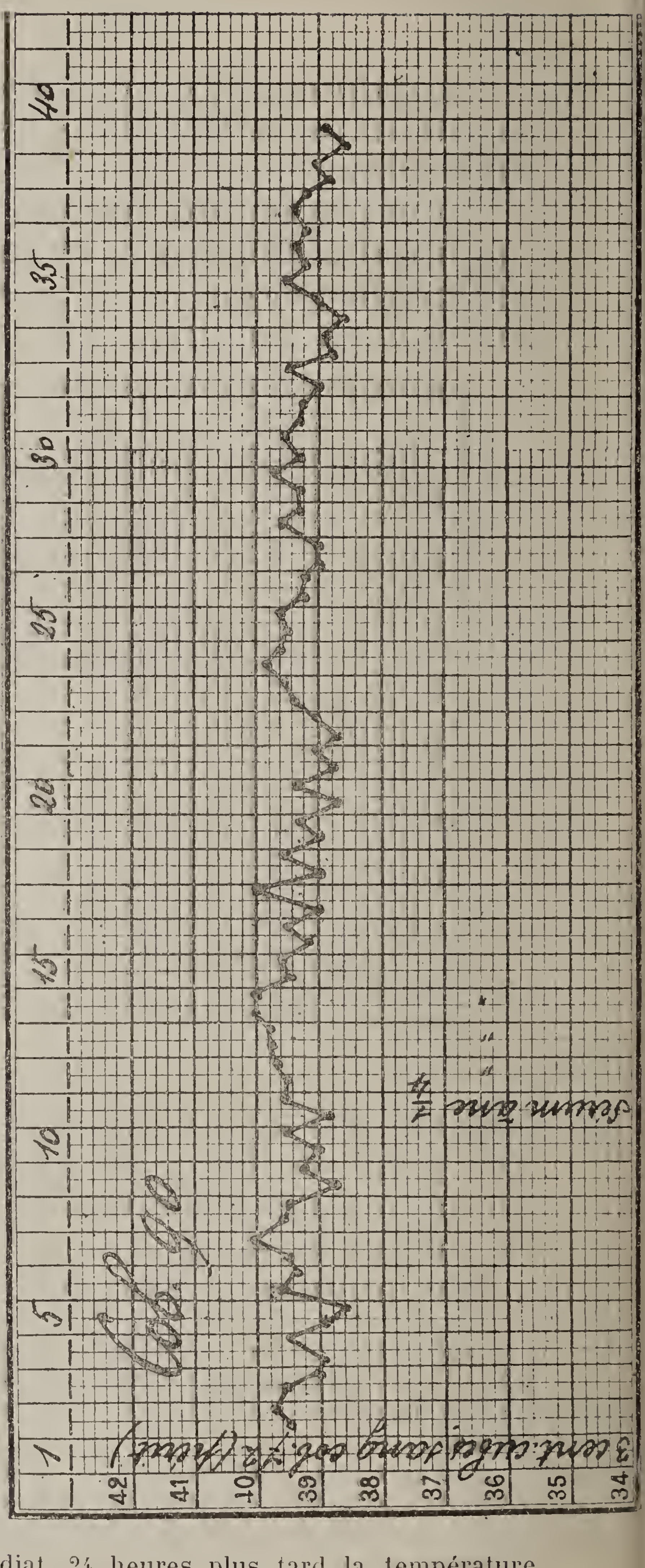
Les expériences qui démontrent ces faits sont les suivantes :

Expérience III. — Le 5 octobre, le *cobaye 24* reçoit dans la cavité péritonéale 3 cent. cubes de sang du cobaye 6 (41e passage par cobayes, Virus II). Légère hypothermie consécutive; la température remonte à la normale le 5e jour.

Ce même jour, inoculation de 1 cent. cube et demi du sérum d'âne (deuxième saignée); le lendemain 1 cent. cube. Aucune élévation thermométrique ultérieure. L'animal est mort accidentellement au 23e jour. (*Courbe 4.*)

Témoin positif.

Expérience IV. — Le 6 novembre, le *cobaye 90* reçoit dans la cavité péritonéale 3 cent. cubes de sang du cobaye 72 (44e passage par cobayes, Virus II). Le jour même où le témoin commence son typhus (11e jour), on inocule au cobaye 90 et sous la peau, 1/4 de cent. cube de sérum d'âne (deuxième saignée) ; cette inoculation est répétée les 3 jours qui suivent. L'examen de la courbe (*Courbe 5*) montre d'une façon saisissante l'arrêt du typhus qui allait se déclarer. Aucune élévation thermique consécutive.

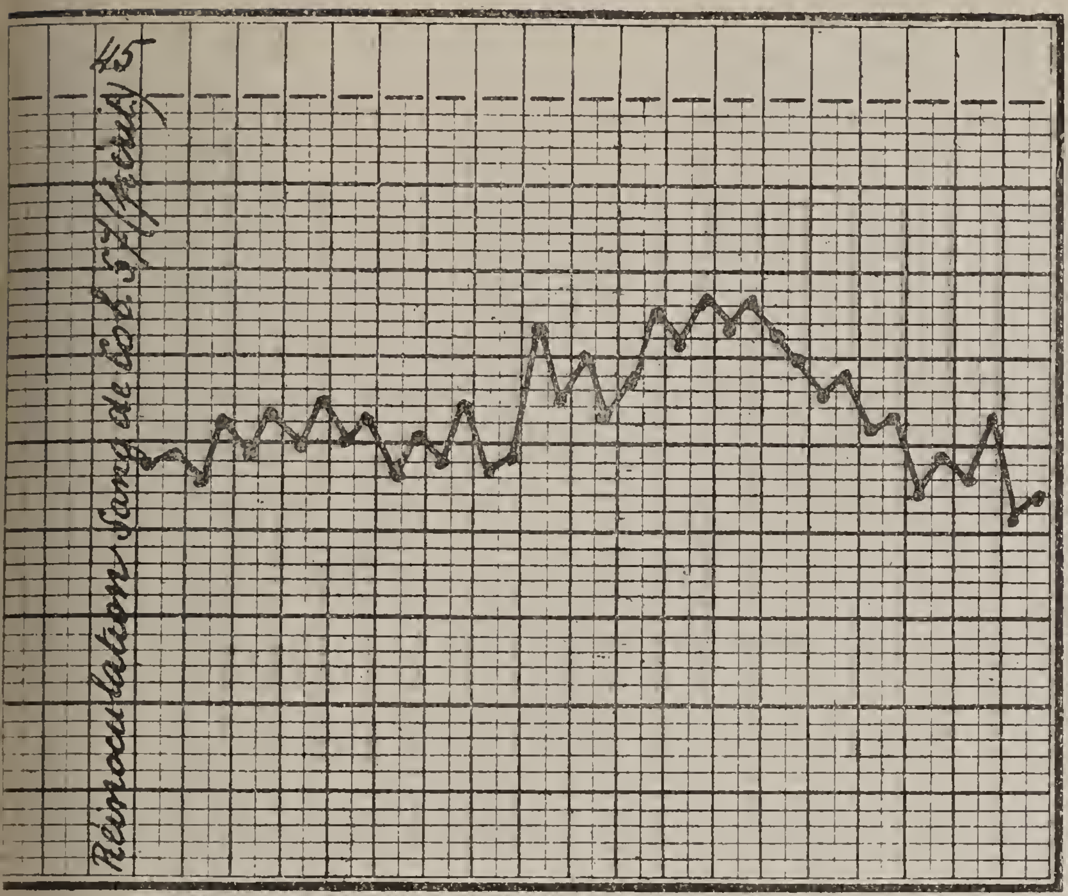


Témoin positif.

Éprouvé au 45e jour de sa première inoculation avec 3 cent. cubes de sang du cobaye 57 (52e passage, Virus I), le cobaye 90 a contracté un typhus classique de 8 jours de durée, après une incubation de 9 jours (*Courbe 5 bis*).

L'action neutralisante du sérum d'âne, dans ce cas, a été doublement prouvée : 1° par l'arrêt du typhus, au moment où la fièvre se déclarait; 2° par la suppression de l'immunité que l'inoculation du virus, si elle n'avait été enrayée par celle du sérum, eût comme toujours déterminé.

Expérience V. — Le 24 juin, le *cobaye 48* reçoit dans la cavité péritonéale 3 cent. cubes de sang du cobaye 34 (32e passage par cobayes, Virus II). Le 16e jour, la température commence à s'élever, elle dépasse 41° le 17e jour au soir. Ce même jour (2e du typhus), on pratique au cobaye une inoculation sous-cutanée de 1 cent. cube de sérum antiexanthématique de l'âne (première saignée); l'effet est immédiat, 24 heures plus tard la température



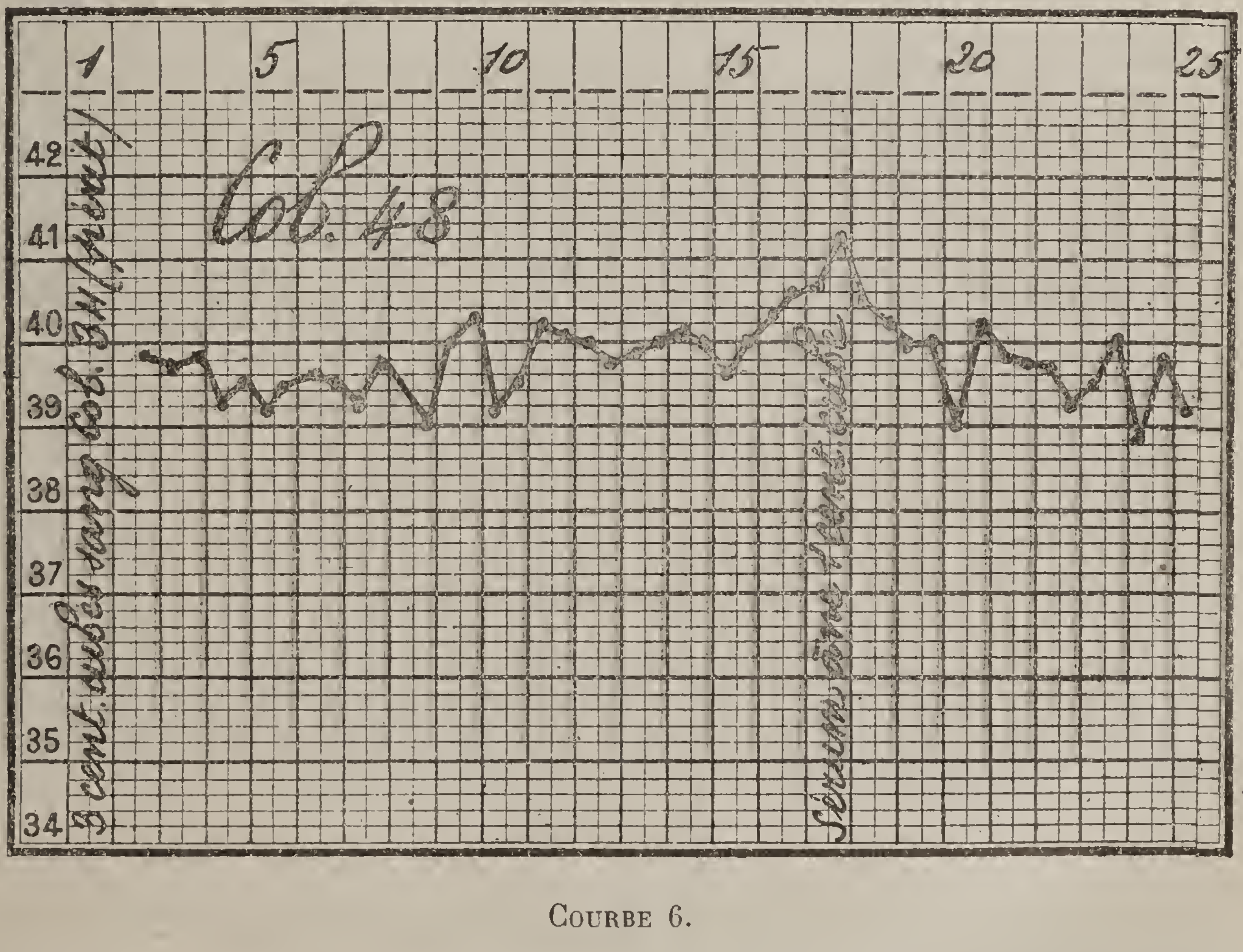
COURBE 5 *bis*.

est retombée à la normale et la maladie est terminée. (*Courbe 6.*)

Témoin positif.

EXPÉRIENCES VI et VII. — Nous ne rapportons ces expériences que pour montrer qu'une inoculation trop tardive de sérum, au cours du typhus expérimental du cobaye, n'a qu'une action faible ou douteuse sur l'évolution de la température. L'examen des courbes est, à ce sujet, assez concluant pour que nous croyions utile d'insister. (*Courbes 7 et 8.*)

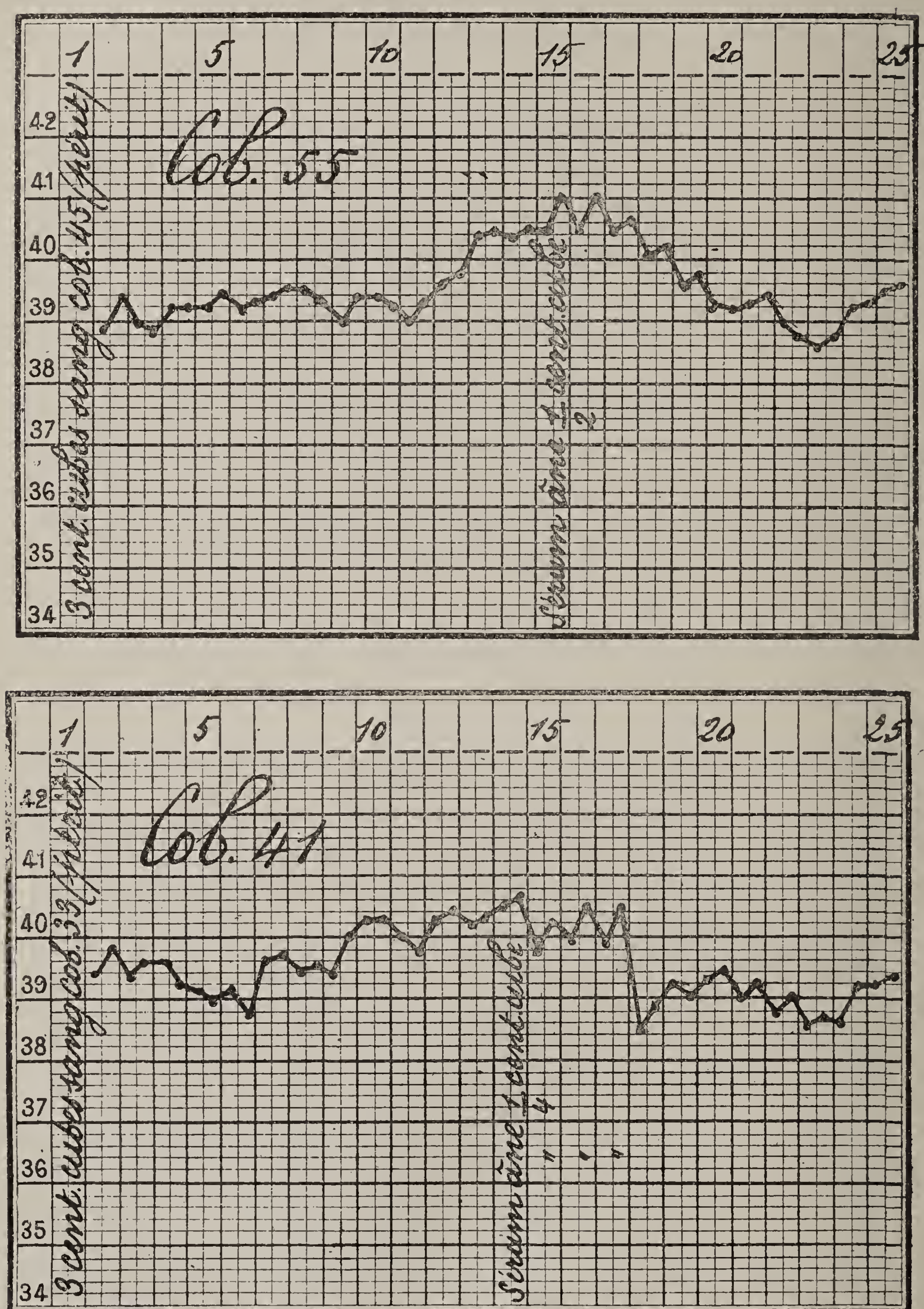
Le cobaye 55 avait reçu le sang d'un cobaye de 51e passage (Virus I), le cobaye 41 celui d'un cobaye de 48e passage (même Virus). Tous deux ont été



COURBE 6.

traités par le sérum de la seconde saignée de l'âne; le *cobaye 55*, au 4e jour

de son typhus, a reçu une dose faible et unique (1/2 cent. cube); le *cobaye 41*, à partir du 9e jour de sa fièvre, quatre doses de 1/4 de cent. cube. Chez ce



COURBES 7 et 8.

dernier animal, la chute particulièrement brusque de la température paraît relever encore de l'action du sérum.

Témoins positifs.

APPLICATION DU SÉRUM ANTIEXANTHÉMATIQUE AU TRAITEMENT DU TYPHUS HUMAIN

Cette application a été réalisée jusqu'à ce jour sur 38 malades. Trente et une observations appartiennent à M. le médecin de 1re classe R. Potel, médecin traitant de l'hôpital permanent de la marine de Sidi Abdallah; les sept autres à M. le Dr H. Poirson, médecin de colonisation à Medjez el Bab (Tunisie).

Ces malades se décomposent ainsi : 22 Français, 9 indigènes tunisiens, 7 Serbes. Le sérum employé a été celui de l'âne (1), recueilli après les 30e, 60e, 80e, 99e et 105e inoculations. M. Poirson a fait usage du sérum de la première saignée, M. Potel de celui des quatre suivantes.

La première constatation, qui ressort de l'examen des observations de nos confrères, est que, sur leurs 38 malades, il n'y a eu qu'un seul décès. Ce cas est celui d'un infirmier français tuberculeux, mort d'une complication sans rapport avec l'infection typhique elle-même, dont il était convalescent (phlegmons multiples consécutifs à des piqûres d'huile camphrée).

La gravité du typhus exanthématique varie essentiellement avec les épidémies, les soins donnés et les races. Chez les Serbes observés dans les formations sanitaires de Bizerte, la bénignité de la maladie était frappante; aussi le traitement sérothérapique ne fut-il appliqué que sur 7 malades, dont l'état semblait désespéré. On sait, au contraire, combien sévère est le typhus dans notre race. Les 3 premiers Français, entrés dans le service de M. Potel, avant que celui-ci ait reçu de nous le sérum utilisé ultérieurement par lui, avaient donné deux décès pour une guérison. Le fait d'avoir observé ensuite, dans la même épidémie, un seul décès et d'une complication étrangère sur 22 Français soignés par la sérothérapie, nous paraît parler assez clairement en faveur de la méthode.

Pour les autres constatations sur le mode d'action du sérum, nous nous rallions entièrement à l'opinion qui nous a été

(1) Par exception deux Serbes (obs. XXX et XXXI) ont reçu du sérum de cheval.

exprimée par M. Potel et que nous rapportons plus loin (1). La plupart de ses malades ont été vus par nous. Chez tous, le diagnostic de typhus s'imposait. En dehors de symptômes cliniques manifestes et des données étiologiques, la recherche des hématozoaires et des spirilles, les divers séro-diagnostics, les hémocultures pratiquées pour chaque malade avaient permis d'éliminer le paludisme, la fièvre récurrente, les fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et la méditerranéenne; dans quatre cas même, l'inoculation du sang au cobaye fut réalisée et donna un résultat positif.

M. Potel s'exprime ainsi :

« Nos observations prouvent, de façon incontestable, la grande efficacité de cette thérapeutique dont les résultats se manifestent sur tous les symptômes :

« 1° *Action sur la température.* — La courbe des typhiques, traités par les anciennes méthodes, présente habituellement une période pendant laquelle la température se maintient en plateau, sans oscillations, aux environs de 40°; les températures successives différant à peine entre elles de un ou deux dixièmes de degré. Ce plateau a une durée plus ou moins longue, suivant la gravité de la maladie, et constitue même un élément de pronostic.

« Or, chez les malades traités par la sérothérapie, ou bien le plateau n'apparaît pas ou bien il cesse brusquement dès la première injection, quand il existait déjà. Toutes nos observations concordent à ce point de vue. Nos courbes présentent dès le début du traitement, de larges oscillations d'environ un degré. Certaines observations (III, XVII, XXV, par exemple) sont même entièrement déformées par des oscillations d'une amplitude inconnue jusqu'ici dans le typhus et atteignant deux degrés.

« Parfois enfin, la défervescence survient définitivement après une ou deux inoculations, la maladie paraissant arrêtée net dans son évolution; les observations XII, XXIX, XXX, XXXI

(1) Le rapport de M. Potel, duquel nous extrayons ce passage, sera publié *in extenso*, par autorisation de M. le ministre de la Marine, dans le prochain fascicule des *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*; il contient, en outre, des observations d'ordre épidémiologique et clinique sur les cas de typhus observés à Bizerte.

(Serbes), VI et XXI (Français) sont des exemples de cette action abortive du sérum, qui a été constatée 6 fois sur 31, soit environ dans le cinquième des cas.

« 2° *Action sur les symptômes nerveux.* — Cette action est également très sensible et on appréciera toute sa valeur, si on se souvient que la gravité du typhus est due en grande partie à l'intensité de ces symptômes cérébraux et que ce sont eux qui entraînent la mort dans la grande majorité des cas.

« Or, chez tous les malades traités hâtivement par la sérothérapie, le délire, la stupeur, la prostration n'apparaissent pas ou rétrocèdent rapidement. Tout au plus a-t-on observé parfois un peu de somnolence, mais légère et sans perte de connaissance. Les autres symptômes nerveux, céphalée, insomnie, excitation sont eux aussi rapidement amendés. La paralysie des sphincters avec incontinence des selles et des urines, qui est habituelle dans la deuxième semaine, a été très rarement observée. Il en est de même de la dyspnée nerveuse, de l'hyperesthésie cutanée, de la trémulation des lèvres et des tremblements.

« Enfin, les escarres sacrées, dues probablement à des troubles trophiques d'origine nerveuse, si fréquentes dans le typhus et que nous avons parfois constatées chez nos premiers malades traités tardivement par le sérum, ont été généralement absentes chez ceux qui ont bénéficié de ce traitement dès le début de leur maladie.

« 3° *Action sur l'état général.* — L'état général se ressent naturellement de cette absence de phénomènes cérébraux et s'en trouve très amélioré. L'influence de la sérothérapie se fait en outre sentir sur l'état de la langue qui reste constamment bonne, parfois un peu saburrale, mais toujours humide. La langue typhique, sèche, rôtie, ataxique, n'a guère été rencontrée que chez quelques malades, soumis tardivement au traitement. L'amélioration de l'état général se manifeste encore par la grande abondance des urines, qui atteignent rapidement trois et quatre litres, et par la bonne condition du cœur et du pouls, qui restent sans cesse réguliers, bien frappés, à peine accélérés. Nous n'avons rencontré, chez aucun de nos malades, la constipation opiniâtre signalée par les auteurs; tout au plus y a-t-il eu parfois une légère tendance à la constipation, mais

cédant facilement aux moyens usuels. De même, l'odeur typhique fétide n'a jamais été constatée.

« Enfin, la convalescence nous paraît avoir été plus rapide chez les malades traités par la sérothérapie, l'amaigrissement moins prononcé, la dénutrition moins profonde.

« 4° *Action sur la durée de l'affection.* — Il est de notion classique que la durée du typhus est de quatorze jours. Les statistiques de Murchison portant sur 600 cas, de Barralier sur 1.000, donnent respectivement une moyenne de 13 jours, 63 et de 14,52.

« Or, nous avons vu, dans nos observations, que, dans 20 p. 100 des cas (6 sur 31), la maladie avait paru arrêtée dans son évolution après une ou deux inoculations et que, d'autre part, les défervescences du 6e au 12e jour étaient nombreuses. Si l'on considère la durée moyenne de nos 31 cas, on voit qu'elle est de 11,61 jours, c'est-à-dire très sensiblement inférieure à la moyenne habituelle.

« 5° *Action sur les complications.* — Les complications de toute nature sont habituellement plus fréquentes encore dans le typhus que dans la fièvre typhoïde. Or, aucun de nos malades n'a présenté de complication. On ne peut en effet considérer comme telle la congestion hypostatique des bases pulmonaires, qui est plutôt un symptôme de la période d'état et qui retarde parfois la défervescence. La sérothérapie aurait donc pour résultat de rendre les complications extrêmement rares, sinon inexistantes.

« 6° *Action sur la gravité de la maladie.* — En médecine, plus que partout ailleurs, une méthode se juge par les résultats obtenus. Les nôtres ont tout lieu de nous satisfaire. Dans une affection où, d'après les statistiques les plus autorisées, la mortalité varie selon les épidémies de 22 à 50 p. 100 des cas (Murchison 22,03 p. 100), Barralier 33,48 p. 100, Jacquet 50 p. 100), nous n'avons eu qu'un décès sur 31 cas, c'est-à-dire environ 3 p. 100. Et encore, cet unique décès, survenu au 21e jour de maladie, est-il dû à une complication indépendante du typhus (phlegmons des membres) et où celui-ci n'a guère joué que le rôle de cause favorisante, en mettant le sujet en état de moindre résistance.

« L'action curative du sérum antiexanthématique est donc

remarquable. Son efficacité nous a paru au moins aussi grande que celle du sérum antiméningococcique dans le traitement de la méningite cérébro-spinale. Il se rapproche d'ailleurs beaucoup de ce dernier, non seulement par son mode d'action, mais encore par les règles de son emploi. En effet :

« 1° *Il y a grand intérêt à commencer le traitement sérothérapique dès le début de l'affection*, sitôt le diagnostic posé ou même seulement soupçonné. Une erreur à ce sujet ne saurait être préjudiciable au malade, aucun accident n'ayant pu être relevé à la charge du sérum, en dehors de quelques réactions sériques banales.

« 2° *Il faut renouveler quotidiennement les inoculations jusqu'à la défervescence* ou tout au moins jusqu'à une amélioration réelle et profonde de l'état général annonçant une convalescence proche. Il a souvent été nécessaire de faire 8 ou 10 injections et il faut habituellement plusieurs jours avant que l'effet du traitement se fasse sentir. C'est dans la deuxième semaine surtout qu'apparaissent les bénéfices de la sérothérapie, quand on constate l'absence des phénomènes cérébraux habituels à cette période de la maladie et en général si inquiétants.

« 3° Nos observations nous permettent de conclure que *les doses utiles sont de 10 ou 20 cent. cubes par jour*. Les résultats obtenus ainsi ont été beaucoup plus satisfaisants avec ces doses qu'avec celles plus faibles que nous employions au début de nos essais (1).

« Nous avons toujours utilisé la voie hypodermique.

« 4° Nous avons complété le traitement sérothérapique, dont le rôle consiste à provoquer ou à exalter les réactions de défense de l'organisme, par un traitement médical destiné à favoriser l'élimination des toxines microbiennes et des résidus de ces réactions : boissons abondantes et diurétiques, bains tièdes (de 28 à 32°), stimulants et toniques cardiaques; parfois enfin, dans les cas graves avec intoxication profonde, injection de sérum artificiel à la dose de 500 à 800 grammes.

« Les bains nous ont paru avoir une action antithermique

(1) L'emploi de doses faibles avait été conseillé au Dr Potel par nous, en raison de la toxicité de notre sérum pour le cobaye. L'usage a prouvé que cette toxicité était strictement spécifique et que l'homme pouvait recevoir sans inconvénient des doses de sérum élevées et répétées.

nulle, mais ils favorisent les fonctions de la peau, calment l'agitation et procurent une certaine sensation de bien-être.

« Ces moyens médicaux, auxquels il convient d'ajouter les soins constants et dévoués d'un personnel infirmier d'élite, sont d'utiles adjuvants au traitement sérothérapique et nous ont rendu quelques services. Mais nous ne nous exagérons pas leur valeur; leur insuffisance a été maintes fois démontrée au cours des épidémies antérieures et, en dernière analyse, c'est au sérum antiexanthématique qu'on doit attribuer les résultats si remarquables que nous avons obtenus. »

Les conclusions tirées par M. Poirson de ses observations sont de même ordre; notre confrère insiste, lui aussi, sur l'action rapide du sérum sur la température, l'état général et les symptômes nerveux, ainsi que sur l'absence de toute complication. Nous rappelons que les 7 malades traités par M. Poirson appartenaient à la race tunisienne indigène. Leur état, dans trois cas au moins, était grave et l'un de ces malades, une femme, venait de perdre son mari de typhus dans le même foyer épidémique.

Les observations de MM. Potel et Poirson sont rapportées en détail dans les pièces justificatives qui suivent. A ces deux excellents confrères nous adressons ici nos remerciements, heureux que l'occasion nous ait procuré en eux des collaborateurs aussi éclairés. Il nous est agréable de témoigner aussi notre reconnaissance à M. le médecin en chef Barthélemy, directeur du Service de Santé de l'arrondissement de Bizerte, pour la bienveillance avec laquelle il a autorisé et surveillé le traitement des malades de l'hôpital de Sidi-Abdallah.

Est-il utile d'ajouter à tant de preuves d'expérimentation et d'observation déjà données, qu'aucun autre facteur que le pou n'a joué de rôle dans la transmission des cas de typhus observés dans les formations sanitaires improvisées de Bizerte.

Les médecins et infirmiers qui furent atteints avaient été tous porteurs de poux et le seul service, dont le personnel demeura indemne, fut précisément celui du D[r] Potel, où les malades ne manquèrent pas, mais où aucun ne fut admis qu'après un épouillage parfait, plus facile à réaliser sur quelques entrants

français que sur des centaines de miséreux balkaniques affluant au même jour.

PIÈCES JUSTIFICATIVES

(*Les observations des malades traités par le sérum antiexanthématique sont rangées dans l'ordre chronologique où elles nous ont été adressées.*)

A. — Observations du Dr H. Poirson, médecin de l'Hôpital de Medjez-el-Bab (Tunisie).

(Première série de cinq observations.)

Observation I (Typhus exanthématique, forme adynamique, gravité moyenne). — A. R..., treize ans, indigène tunisien. Malade depuis 11 jours. Début par un violent mal de tête, fièvre, constipation opiniâtre, datant, au 14 novembre 1915, de 4 jours. Le *15*, purgation, suivie à nouveau de constipation. Jusqu'au *25*, céphalée, abattement, indifférence totale du malade à tout ce qui se passe autour de lui. Alimentation assez facile à base d'eau, de lait, urines assez abondantes. Herpès à la lèvre supérieure. Langue blanche, sèche; pointe rouge, base de la langue grisâtre. Pas de congestion du foie, ni de la rate. Éruption caractéristique sur les faces antérieures des avant-bras. 500 grammes d'urine en 18 heures; pas d'albumine. Pouls régulier. fort, égal.

26. — Injection sous-cutanée de 5 cent. cubes de sérum antiexanthématique.

27. — La céphalée a disparu, le malade se sent bien, n'a plus la sensation de fièvre. Lieu de la piqûre du 26 un peu douloureux. Le pouls est mieux frappé ce jour que la veille. 2e injection de 5 cent. cubes.

29. — Langue encore blanchâtre, mais humide; état général très bon. Demande à manger. Lieux des piqûres non douloureux. (*Courbe 9*.)

Observation II (Typhus exanthématique, forme adynamique, gravité moyenne). — M. bent A..., quarante-cinq ans, femme indigène. Malade depuis 8 jours (18 novembre). Début par céphalée, fièvre, diarrhée qui a duré 2 jours; puis constipation du 20 au 26. Surdité. Délire calme, somnolence continuelle. Langue sèche, blanche, brunâtre sur le milieu et en arrière. Éruption caractéristique sur la face antérieure de l'épaule droite. Pas de congestion du foie, ni de la rate. Pouls régulier, égal, faible.

Le *26*. — 5 cent. cubes sérum.

Le *27*. — Pouls très bien frappé. 2e injection sérum. Pas d'accidents sériques. (*Courbe 10*.)

Observation III (Typhus exanthématique adynamique, au début). — B. A..., quarante ans, indigène tunisien, habite la maison du malade de l'observation II (*Courbe 11*).

Début de la maladie le 24 novembre par céphalée, fièvre, constipation. Se

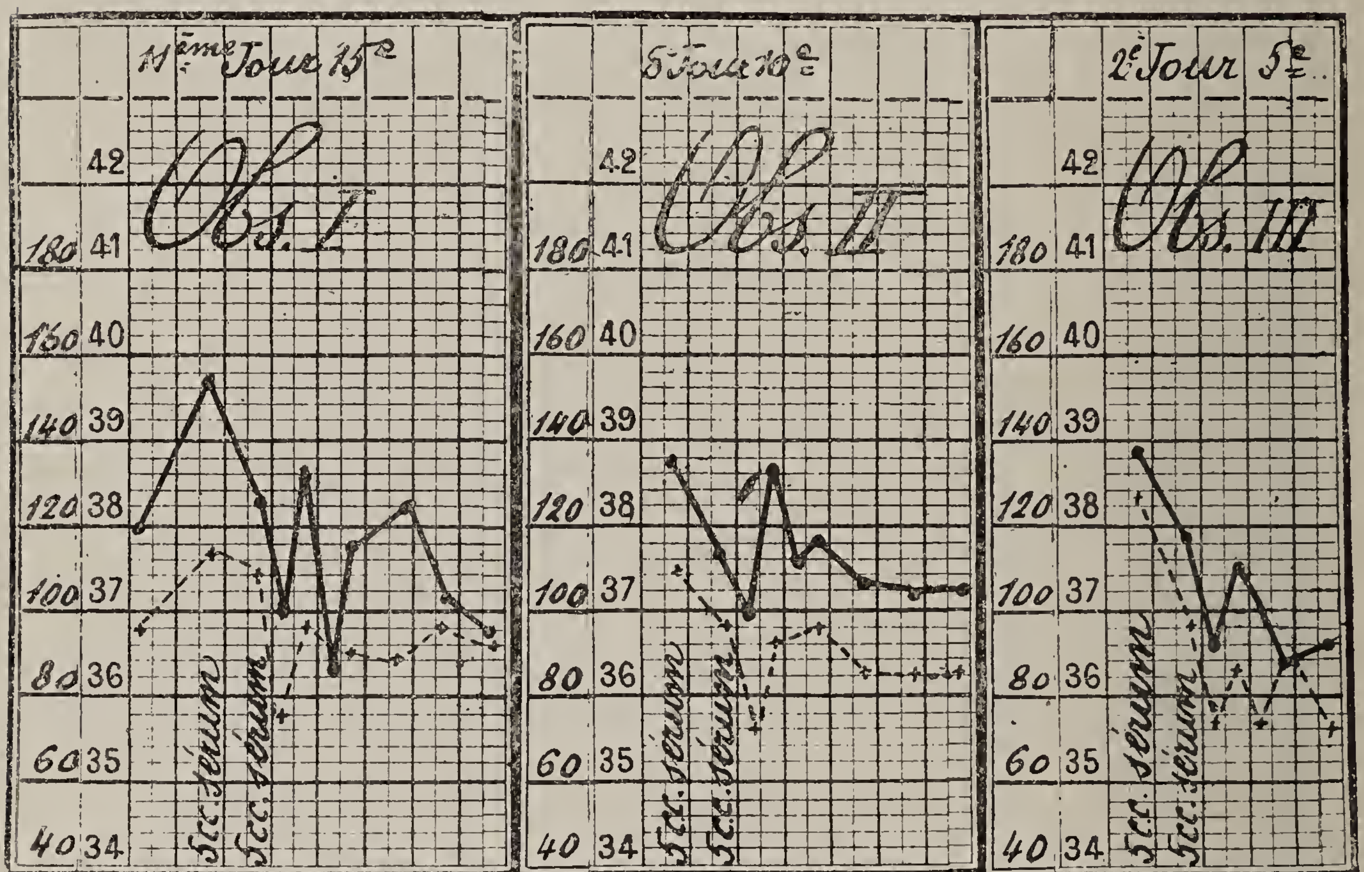
plaint continuellement. Pas de congestion du foie, ni de la rate. Ventre souple. Langue sèche et blanche.

Le *26*. — 5 cent. cubes sérum.

27. — Pouls égal, régulier, un peu faible. Céphalée moindre. Le malade se plaint moins et reconnaît se sentir mieux. Langue toujours blanche, mais humide. 2e injection de 5 cent. cubes.

29. — La langue est rose. Le pouls est tout à fait bon. Le malade demande à manger.

Pas d'accidents sériques,



Courbe 9. Courbe 10. Courbe 11.

Observation IV (Typhus exanthématique adynamique, grave). — F. bent D..., quarante ans, femme indigène (mère du malade de l'observation V). Malade depuis 8 jours (3 février). Abattement très prononcé. Langue sèche, couverte de fuliginosités. Délire calme, provoqué par l'interrogatoire. Pouls régulier, égal, très petit. Exanthème confluent. Examen du sang (hématozoaires, spirilles) négatif. 7 cent. cubes sérum.

12. — Pouls moins fréquent et plus perceptible que la veille. La malade répond un peu mieux aux questions. Urines très abondantes et diarrhée, incontinence des matières et de l'urine. 2e injection de 10 cent. cubes.

13. — Pouls bon, régulier, égal. Malade éveillée. Les fuliginosités de la langue et des lèvres se détachent. Boit très volontiers ; amélioration notable de l'état général ; le pronostic paraît bon. 3e injection de 5 cent. cubes.

14. — L'amélioration se maintient. La malade demande à manger. (*Courbe 12*.)

A remarquer qu'il n'a été donné à la malade aucun tonique cardiaque.

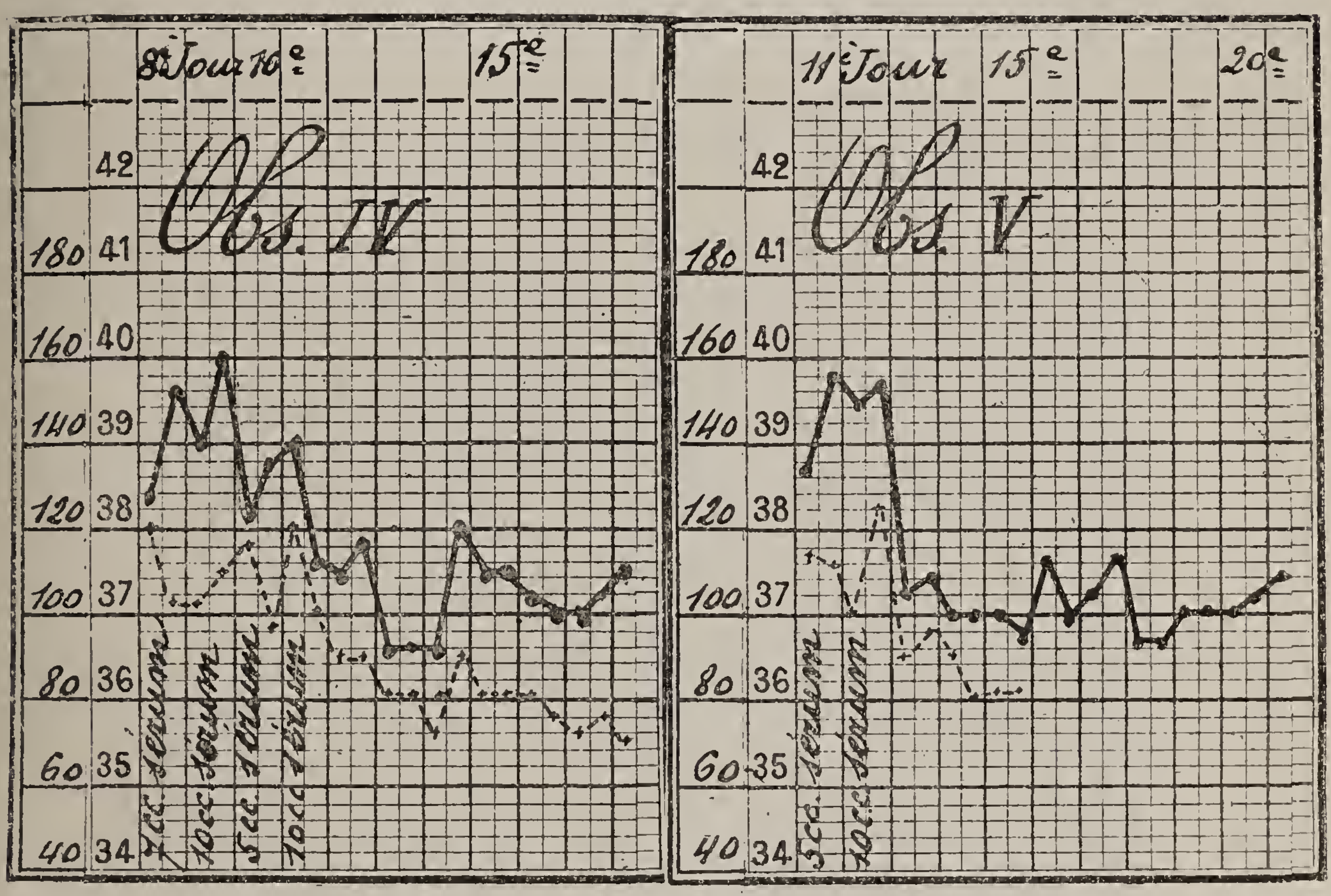
L'action du sérum est éclatante.

Pas d'accidents sériques.

Observation V (Typhus exanthématique adynamique). — A. b. A..., vingt-cinq ans, indigène tunisien. Malade depuis 11 jours.

Exanthème caractéristique. Langue blanche, encore humide à la pointe. État général bon. Pouls régulier, égal, assez ample. Examen du sang (hématozoaires, spirilles) négatif.

Les *11* et *12*, 10 cent. cubes sérum. Chute rapide de la température. Convalescence facile. Pas d'accidents sériques (*Courbe 13.*)



Courbe 12. Courbe 13.

B. — Observations du Dr R. Potel, médecin de 1re classe de la Marine, médecin traitant de l'Hôpital permanent de Sidi-Abdallah (Tunisie). — Première série de 7 cas.

Le transport-hôpital *France-IV* avait embarqué, le 1er février 1916, à Corfou, 2.000 soldats serbes, malades et blessés, à destination des hôpitaux de Bizerte.

A cet date, l'état sanitaire de l'équipage était excellent; le personnel infirmier, en particulier, était en entier à son poste, et il n'y avait aucun exempt de service.

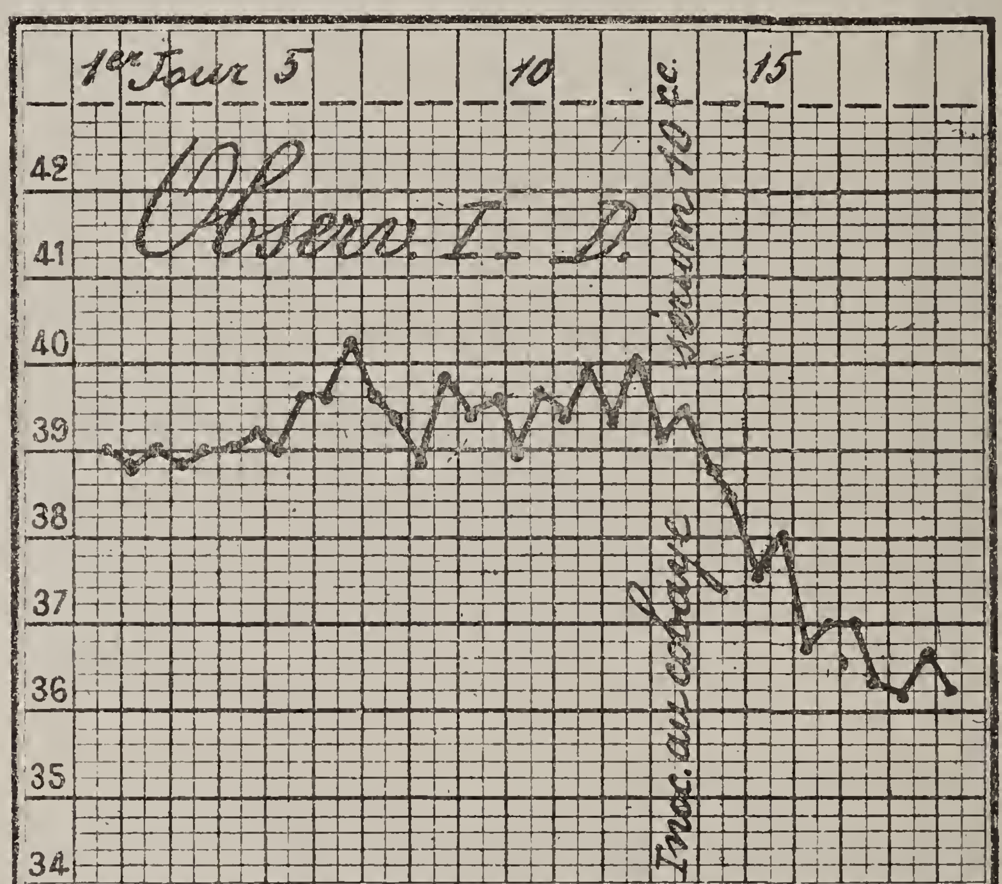
Les premiers cas de typhus exanthématique se sont manifestés le 12 février 1916, date à laquelle les premiers malades se sont présentés à la visite et les cas se sont échelonnés jusqu'au 24 février.

Tous ces malades avaient été, par les nécessités de leur

service, en contact avec les Serbes et avaient été porteurs de poux.

Observation I. — D..., 2e maître infirmier, trente-quatre ans. Cet homme s'est senti indisposé le 9 février; il a néanmoins continué son service jusqu'au 12, date à laquelle il se présente à la visite, se plaignant de courbature, de céphalée, d'insomnie, de constipation. Température, 39°. Mêmes symptômes les jours suivants; fièvre élevée, en plateau, constipation persistante, rachialgie, langue saburrale. Le 20 février, apparition d'un exanthème discret, non confluent, généralisé au tronc et aux cuisses. Subdélire, langue sèche, légère injection des conjonctives, stupeur.

Entré à l'hôpital le 21 février; mêmes symptômes, constipation persistante,



Courbe 14.

cédant facilement aux lavements ou à l'ingestion d'huile d'olive. Insomnie, conjonctivite, stupeur et prostration. A l'examen direct : facies vultueux, pas de symptômes abdominaux, rate et foie normaux. Quelques râles de bronchite. Pouls petit, rapide, hypotendu. Cœur assourdi. L'exanthème est très net. Léger énanthème buccal, violacé, sur le voile; surdité.

Le *23*, légère amélioration de l'état général sans modification des symptômes physiques. Urines plus abondantes.

Le *24* soir, injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique.

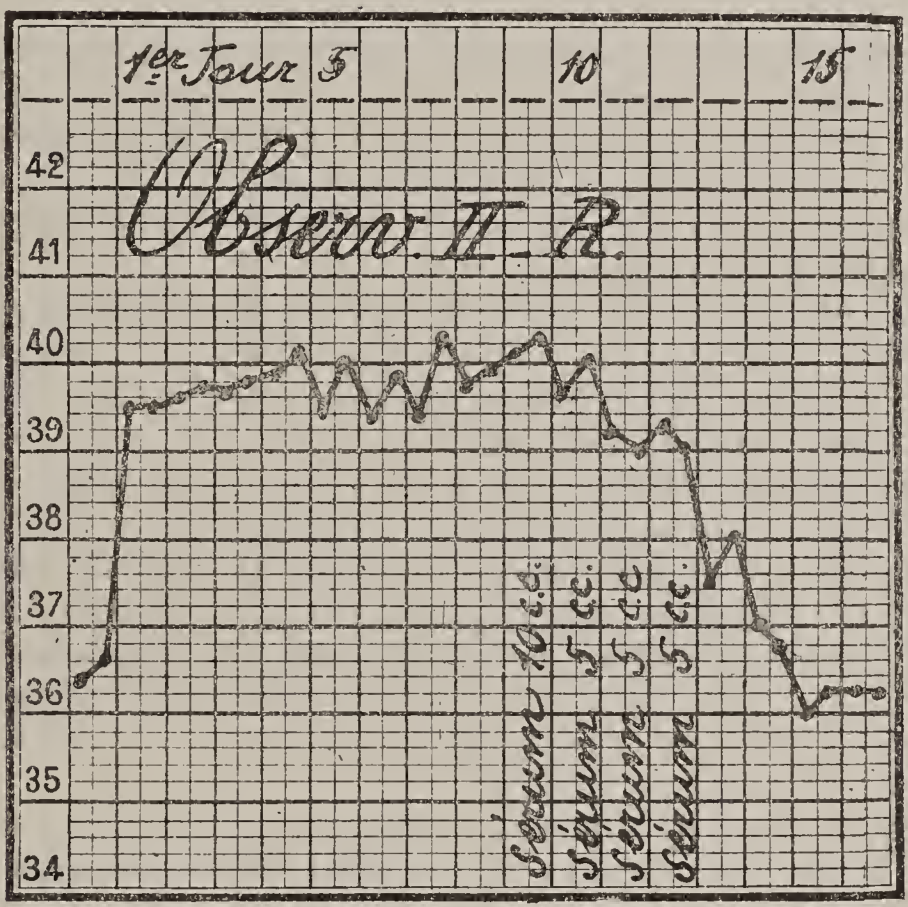
Le *25*, commencement de la défervescence, qui se poursuit normalement les jours suivants avec disparition progressive des symptômes. L'exanthème persiste encore quelques jours. (*Courbe 14.*)

Ce 2e maître avait été vacciné contre la fièvre typhoïde (quatre injections Chantemesse 1915); deux hémocultures, pratiquées au 7e et au 10e jour de

la maladie, ont été négatives. Recherche du spirille d'Obermeier, négative. Par contre, *inoculation positive au cobaye* avec le sang prélevé le 24 février (typhus expérimental).

Observation II. — R... (François), soldat infirmier, vingt-trois ans. Vacciné contre la fièvre typhoïde. Se présente à la visite le 16 février, mais se sentait indisposé depuis le 9. Du 16 au 21 février, fièvre continue en plateau. Stupeur, constipation, insomnie, langue sèche, céphalée.

Entré à l'hôpital le 21. Température, 40°. Langue sèche, rôtie, fendillée. Trémulation fine des lèvres et des extrémités. Stupeur profonde avec subdélire. Présence d'un exanthème rose violacé très net. Pas de symptômes abdominaux. Pouls petit, rapide ; cœur sourd. Urines peu abondantes.



Courbe 15.

Deux hémocultures aux 6e et 9e jours de la maladie, négatives. Recherche du spirille d'Obermeier, négative.

Même état jusqu'au 24 février; à cette date, stupeur et prostration plus profondes. Etat semi-comateux, bouche et dents fuligineuses. Pouls très rapide, 120. Raideur de la nuque; éruption très nette, pétéchiale. La température augmente peu à peu depuis deux jours et atteint 40°3. L'état du malade paraît très grave. On pratique le 24 au soir une injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique.

Le lendemain, pas d'amélioration de l'état général, ni du pouls; mais fléchissement de la température : 39°7.

Deuxième injection de 5 cent. cubes de sérum le 25 soir.

Le *26* matin, fléchissement de la température : 39°2, qui se poursuit le soir, avec amélioration sensible du pouls et de l'état général; troisième injection de 5 cent. cubes de sérum.

Le *27*, état stationnaire; quatrième injection de 5 cent. cubes de sérum.

Le *28*, défervescence nette : 37°6, avec amélioration considérable de tous les symptômes (13e jour de la maladie).

Ce cas, qui paraissait d'un pronostic très défavorable, en raison de l'intensité des symptômes généraux, de l'état fuligineux de la bouche, du pouls, semble avoir été très favorablement influencé par le sérum. (*Courbe 15.*)

Observation III. — C..., vingt ans, soldat infirmier. Vacciné contre la fièvre typhoïde (quatre injections Vincent).

Début le 7 février, après six à sept jours d'indisposition, par de la fièvre et des frissons, des courbatures, une épistaxis.

Entré à l'hôpital le 21 février; on note : fièvre élevée, en plateau, avec stupeur profonde et prostration. Insomnie, constipation, facies vultueux. Langue sèche, rôtie, fendillée ; légère injection des conjonctives. Foie et rate normaux. Pouls petit, rapide. Cœur assez bien frappé. Quelques râles aux deux bases. Exanthème très net sur tout le tronc. Urines assez abondantes, claires.

Deux hémocultures, aux 6e et 10e jours de la maladie, négatives. Recherche du spirille d'Obermeier, négative.

Même état jusqu'au 24. A cette date, aggravation des symptômes généraux : délire, bouche et dents fuligineuses, adynamie ; selles et urines involontaires, pouls plus rapide, cœur assourdi. Injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique le 24 au soir.

Le lendemain, chute marquée de la température qui tombe de 40° à 37°9; mais sans amélioration des symptômes généraux, qui sont très inquiétants. Langue rôtie, ataxique; fuliginosités de la bouche, pouls plus rapide, petit; cœur sourd. Éruption très accusée, pétéchiale. La température se relève le soir à 39°2. Deuxième injection de 5 cent. cubes de sérum, le 25 au soir.

Le *26* au matin, nouvelle chute de la température, 38°1 ; mais l'état général semble encore s'aggraver, la température se relève le soir à 39°8. Troisième injection de sérum de 5 cent. cubes.

Le *27* matin, nouvelle chute de la température, 38°5. Même état général inquiétant. Pouls, 125, très petit, selles et urines involontaires. Le soir, 39°2. Cinquième injection de sérum de 5 cent. cubes.

Le *28* matin, la température a de nouveau baissé, 38°6, mais le malade semble dans le coma : perte absolue de connaissance. Carphologie, dyspnée, râles de congestion des deux bases, pouls filiforme, cœur sourd, éruption pétéchiale généralisée. Selles et urines involontaires. Langue rôtie, ataxique.

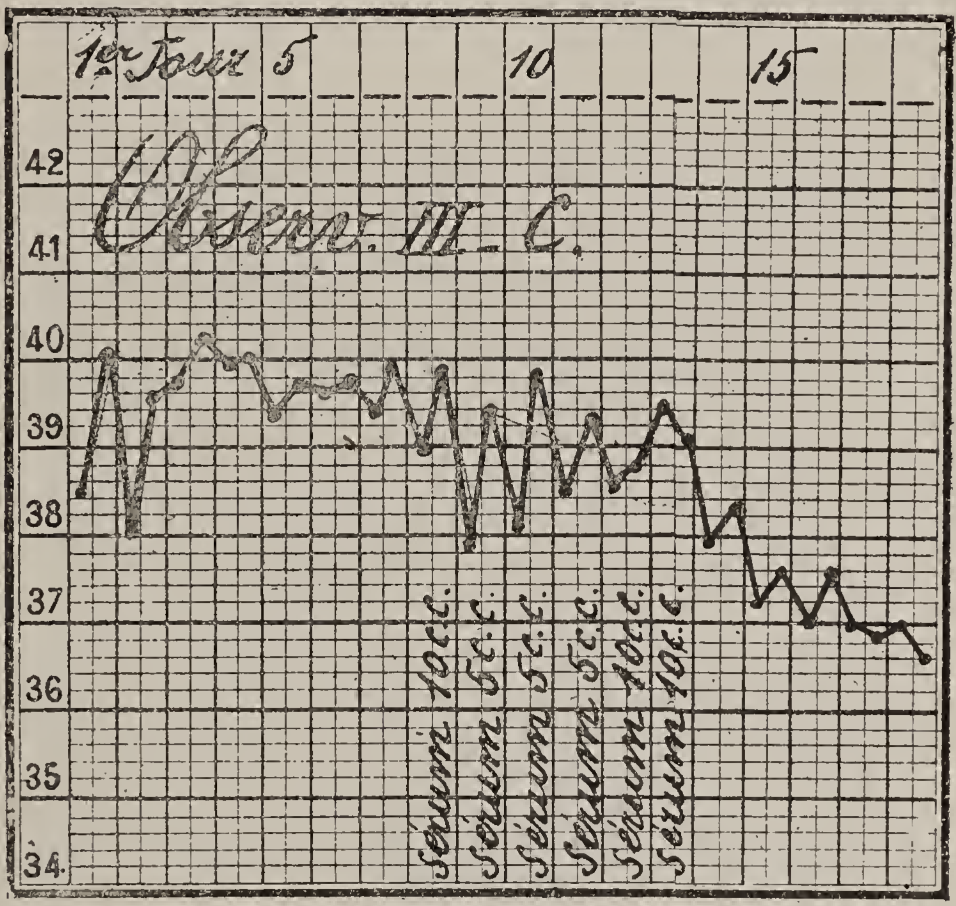
En présence de l'état quasi désespéré du malade et devant les modifications apportées chaque fois à la température par les injections de sérum, on fait le 28, au matin, une 6e injection de 10 cent. cubes de sérum.

Le soir, la température s'est à peine élevée de deux dixièmes : l'état général reste grave ; le pouls est à 110, un peu meilleur.

Le *29* au matin, température 39°4 (Il n'a pas été fait d'injection de sérum le 28 au soir). Etat général toujours très grave : coma, carphologie, pouls filiforme; on refait 10 cent. cubes de sérum.

Le *1er mars*, chute de la température (38°) qui poursuit ensuite sa défervescence normale et amélioration considérable de l'état général; le malade a repris connaissance; les urines et les selles ne sont plus involontaires. Le pouls et le cœur sont meilleurs, la langue est humide. Depuis, la convalescence se poursuit sans incidents, quoique assez lente. (*Courbe 16.*)

Cette observation paraît particulièrement intéressante en ce sens que le premier symptôme favorable observé a été la chute de la température, qui a régulièrement suivi chaque injection de sérum, alors que les symptômes généraux et le pouls ne semblaient pas modifiés ou même allaient s'aggravant. Ces modifications de la température nous ont engagé à poursuivre le traitement par le sérum et à augmenter les doses, et nous lui attribuons l'heureux résultat obtenu, alors que l'état du malade avait semblé un moment désespéré.



Courbe 16.

Observation IV. — G..., matelot infirmier. Vacciné contre la fièvre typhoïde (vaccin Chantemesse, 4 injections).

Début brusque le 21 février par fièvre, céphalée, frissons et vertiges. Se sentait fatigué depuis 2 jours.

Entré à l'hôpital, le 22 février; on note : fièvre élevée, 40°2, légère stupeur, facies vultueux, céphalée, insomnie et constipation depuis plusieurs jours. Injection des conjonctives, foie et rate normaux. Langue saburrale, sèche. Pouls petit, hypotendu, 100. Cœur bien frappé. Urines rares, chargées. Exanthème très net sur tout le tronc. Etat général assez satisfaisant, sujet très vigoureux. Même situation jusqu'au 24 février.

Deux hémocultures aux 7e et 10e jours de la maladie, négatives. Recherche du spirille, négative.

On pratique le 24 au soir une injection de 10 cent. cubes de sérum.

Le *25 février*, pas de modification des symptômes généraux, mais urines plus abondantes : 3 litres 400. Température non modifiée. Deuxième injection de 5 cent. cubes de sérum.

Le *26*, troisième injection de 5 cent. cubes de sérum, sans modification apparente de l'état général qui reste satisfaisant. Les urines augmentent : 4 litres.

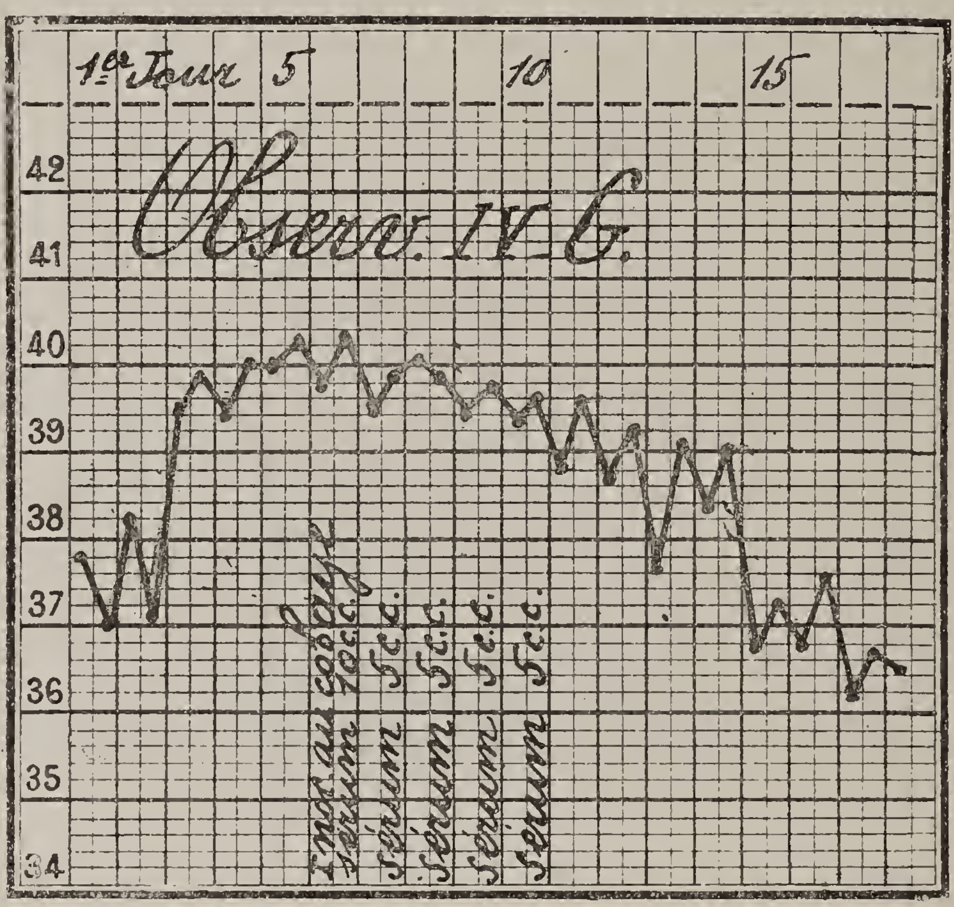
Quatrième injection de 5 cent. cubes, le *27*. Le lendemain, amélioration des symptômes généraux, urines : 4 litres 500. Température toujours élevée.

Cinquième injection, le *28*, 5 cent. cubes. Le lendemain matin, chute de la température. Urines : 6 litres.

A partir de ce moment, la défervescence se poursuit et le malade entre en convalescence. (*Courbe 17.*)

Ce cas, qui paraissait sévère au début, a évolué sans incidents vers la guérison. (Défervescence au 11e jour.)

Inoculation positive au cobaye avec le sang du malade prélevé le 24 février (typhus expérimental).



COURBE 17.

OBSERVATION V. — R..., trente ans, soldat infirmier. Non vacciné contre la fièvre typhoïde.

Cet homme n'a pas été en contact avec les Serbes, mais a soigné à l'infirmerie du *France-IV* les premiers malades atteints de typhus et a été porteur de poux.

S'est senti indisposé le 18 février, mais ne va à la visite que le 20 février et est envoyé à l'hôpital le 25 au soir ; fièvre élevée en plateau avec crochet le 3e jour. Stupeur, céphalée, insomnie, délire, constipation. Langue sèche, rôtie, bouche fuligineuse, injection des conjonctives. Exanthème très net, généralisé au tronc et aux membres. Pouls mauvais : 120, très petit ; cœur sans énergie, sourd. Urines rares. L'intensité des symptômes généraux, les fuliginosités de la bouche et des dents, l'état du cœur et du pouls font porter un mauvais pronostic.

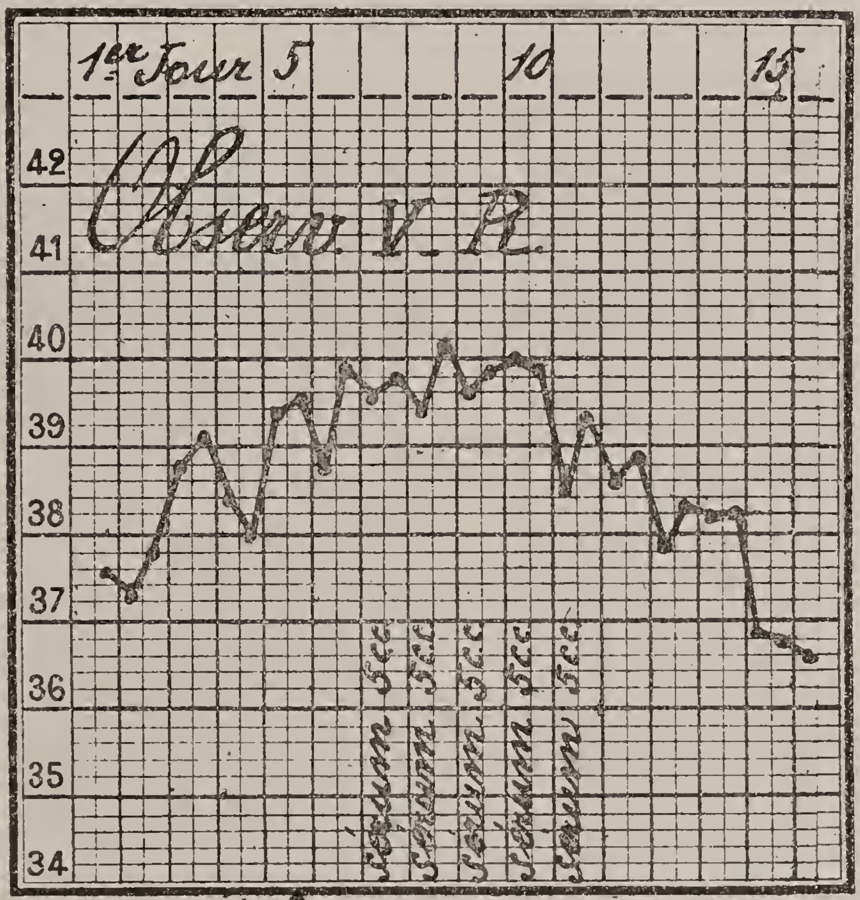
On pratique, le *26* matin, une injection de 5 cent. cubes de sérum, renouvelée le 27.

Le *28* (9e jour de la maladie), on note une amélioration sensible de l'état

général; stupeur moindre, le délire disparaît, la bouche se nettoie, les urines sont plus abondantes.

On refait les *28*, *29 février* et *1er mars* trois autres injections de sérum; la maladie, qui avait semblé comporter au début un pronostic défavorable, évolue rapidement vers la guérison, et la défervescence se produit le 1er mars au 11e jour de la maladie. (*Courbe 18.*)

Séro-diagnostic négatif. Hémoculture pratiquée au 8e jour de la maladie, négative. Recherche du spirille d'Obermeier, négative.



Courbe 18.

Observation VI. — P..., âgé de vingt ans, soldat infirmier. Vacciné contre la fièvre typhoïde. Se sent fatigué depuis le 15 février, mais fait son service jusqu'au 22, date à laquelle il se présente à la visite. Est envoyé le jour même à l'hôpital.

A l'hôpital, on note : fièvre élevée en plateau avec céphalée, stupeur, insomnie, constipation, subdélire. Exanthème très net. Langue saburrale, sèche, injection des conjonctives. L'état général est assez satisfaisant. Pouls, 98, assez bon. Cœur normal, foie et rate normaux. Hémoculture négative. Recherche du spirille, négative.

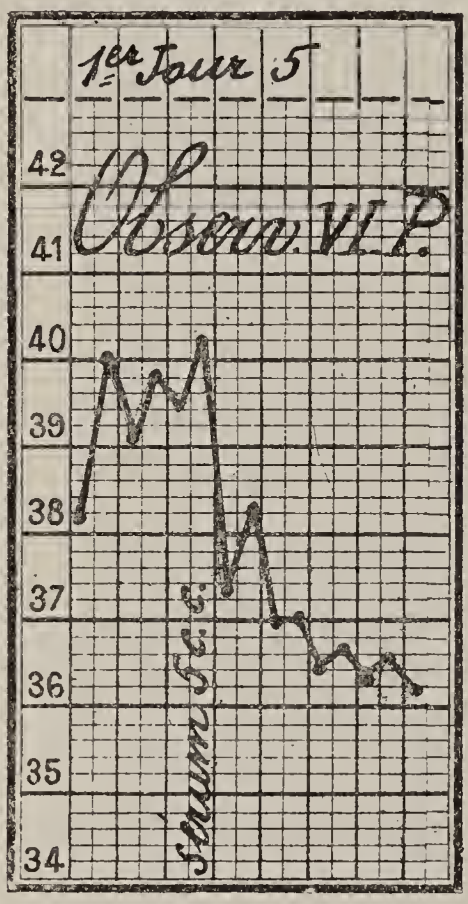
État stationnaire jusqu'au 24, avec fièvre en plateau, légère stupeur. La langue se sèche, mais la bouche n'est pas fuligineuse. L'exanthème est très net, pétéchial.

On pratique, le 24 au soir, une injection de 5 cent. cubes de sérum; le lendemain, amélioration brusque de tous les symptômes avec chute de la température qui tombe de 40° à 37°4. Il n'est pas fait de nouvelle injection et la convalescence se poursuit à partir de ce jour sans incidents. (*Courbe 19.*)

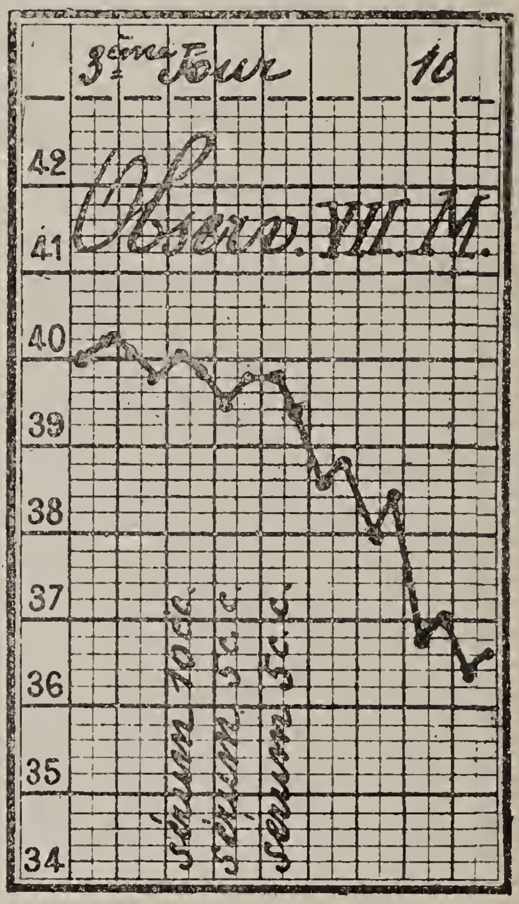
Observation VII. — M..., matelot électricien à bord de la *Lorraine*, entre à l'hôpital le 29 février 1916, avec la mention : « Céphalée. Température, 40° ; taches suspectes. »

La *Lorraine* fait depuis un mois et demi le transport des soldats serbes d'Albanie à Corfou et à Bizerte. Le malade a été appelé par son service dans les parties du bâtiment occupées par les Serbes et a été porteur de poux.

Vacciné contre la fièvre typhoïde, a eu récemment une paratyphoïde. Début brusque le 25 février par de la fièvre et de la céphalée. Se sentait indisposé depuis trois jours environ, mais faisait son service. (*Courbe 20.*)



Courbe 19.



Courbe 20.

A l'arrivée à l'hôpital, on note : température élevée en plateau 39°-40°; céphalée, constipation, insomnie. Langue saburrale, sèche, stupeur et subdélire. Hyperesthésie cutanée. Présence d'un exanthème très net sur le dos, les flancs, la poitrine, les cuisses. Légère injonction des conjonctives. Surdité. Abdomen, foie, rate, normaux. Pouls petit, rapide : 104. Cœur sourd.

Hémoculture négative. Recherche du spirille d'Obermeier, négative. On fait le jour même une injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique; nouvelle injection de 5 cent. cubes le 1er et le 2 mars.

Le 3 mars, chute de la température avec amélioration des symptômes; la défervescence se poursuit les jours suivants et le malade entre en convalescence (défervescence au 9e jour).

C. — **Observations du Dr R. Potel, médecin de 1re classe de la Marine, médecin traitant de l'Hôpital permanent de Sidi-Abdallah (Tunisie).** — Deuxième série de 7 cas.

La *France IV* a procédé, dans les journées des 4, 5 et 6 février, au débarquement des malades serbes qui ont été répartis dans les trois hôpitaux de Sidi-Abdallah.

Aucun cas de typhus ne put être diagnostiqué chez les Serbes avec certitude dans les semaines qui suivirent et aucun cas de contagion ne fut observé dans le personnel infirmier jusqu'au 25 février.

A cette date, le matelot infirmier P..., en service à l'Hôpital complémentaire n° 2, salle 13, tombe malade et est envoyé à l'hôpital ; cet homme présente un typhus bénin, avec exanthème discret et défervescence brusque au 5e jour, il n'a pas été traité par le sérum.

Quatre autres cas graves et d'une netteté de symptômes remarquable se déclarent les jours suivants : 3 à l'Hôpital n° 2, dans le personnel de la même salle 13, et 1 à l'Hôpital complémentaire n° 1.

Observation VIII. — D..., trente-huit ans, sous-maître infirmier, en service à l'Hôpital complémentaire n° 2, salle 13.

Cet homme n'a pas été vacciné contre la typhoïde, mais a eu cette maladie il y a 14 mois à l'Hôpital maritime de Brest (hémoculture positive). A été porteur de poux.

Début brusque le 27 février par de la fièvre, des courbatures, de la céphalalgie. Se sentait fatigué depuis une huitaine de jours auparavant.

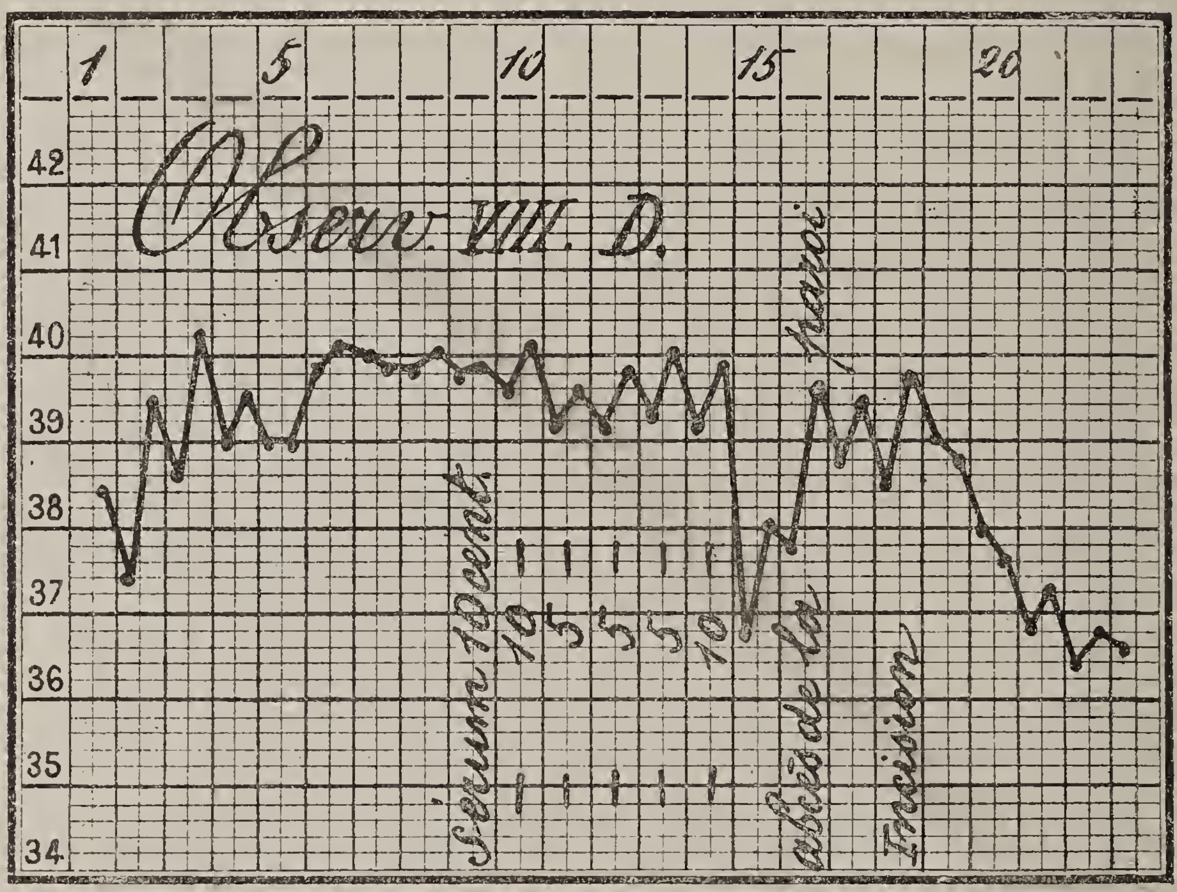
Entre à l'hôpital le 2 mars. A cette date, on note : fièvre élevée entre 39° et 40° depuis 4 jours; céphalée frontale intense. Insomnie, constipation. Légère injection conjonctivale. Prostration. Quelques taches roses surélevées sur les flancs, le dos, la naissance des cuisses et le pourtour des aisselles. Langue saburrale, sèche. Rate percutable, non hypertrophiée. Foie et abdomen normaux. N'a pas eu d'épistaxis. Quelques râles de bronchite disséminés. Pouls rapide, 100. Cœur bien frappé. Etat général médiocre, homme fatigué, prématurément vieilli.

État stationnaire les jours suivants; température en plateau. Le 6 mars, l'éruption très abondante se fonce et ne disparaît plus à la pression. Des marbrures apparaissent entre les taches. Langue très sèche, bouche fuligineuse. Trémulation des lèvres et de la langue. Le facies est vultueux. Le délire apparaît, violent.

Le diagnostic qui, jusqu'alors, avait été hésitant, s'impose en raison des caractères de l'éruption et des symptômes généraux. On commence alors seulement le traitement par le sérum antiexanthématique, au 9e jour de la maladie. Première injection : 10 cent. cubes.

A partir de ce moment, la température qui, jusqu'ici, avait présenté une fixité remarquable à 40°, commence à osciller et baisse légèrement. Les symptômes généraux ne paraissent pas modifiés. Le délire toutefois disparaît et fait place à une stupeur profonde avec adynamie.

Injections de 5 cent. cubes les 7, 8, 9, 10 mars, sans autres modifications. Le 11 mars, l'état du malade paraît très inquiétant; il est dans un état semi-comateux, ne répond pas aux questions posées, s'alimente avec difficulté. Le pouls est petit, rapide : 110. Cœur sans énergie, assourdi. Dyspnée intense: 44, avec râles de congestion aux deux bases. Langue sèche, rôtie, trémulante; sueurs profuses, myosis, selles et urines involontaires, soubresauts tendineux. L'éruption est très abondante, pétéchiale.



Courbe 21.

En présence de ces symptômes alarmants, et nous rappelant que, dans un cas analogue, une forte dose de sérum a amené des résultats inespérés (observation III), on pratique une injection de 10 cent. cubes de sérum anti-exanthématique. Le lendemain, la température est tombée brusquement de 40° à 36°8. Le malade a un peu dormi la nuit et se sent mieux. L'intelligence s'éveille. La respiration est à 22, calme et régulière. Le pouls est assez bien frappé à 82. Les urines sont abondantes, volontaires. L'adynamie toutefois persiste et le malade est très fatigué.

Le soir, la température se relève un peu, 38°, pour redescendre le lendemain. La convalescence semble commencer, quand un léger accident survient; une injection de sérum artificiel a provoqué la formation d'un vaste abcès du flanc gauche. La température se relève autour de 39°.

Le 16 mars, incision de l'abcès, pas de pus collecté. La température tombe les jours suivants, l'état général s'améliore et le malade entre en convalescence. (*Courbe 21.*)

Deux hémocultures, pratiquées aux 9e et 12e jours de la maladie, négatives.

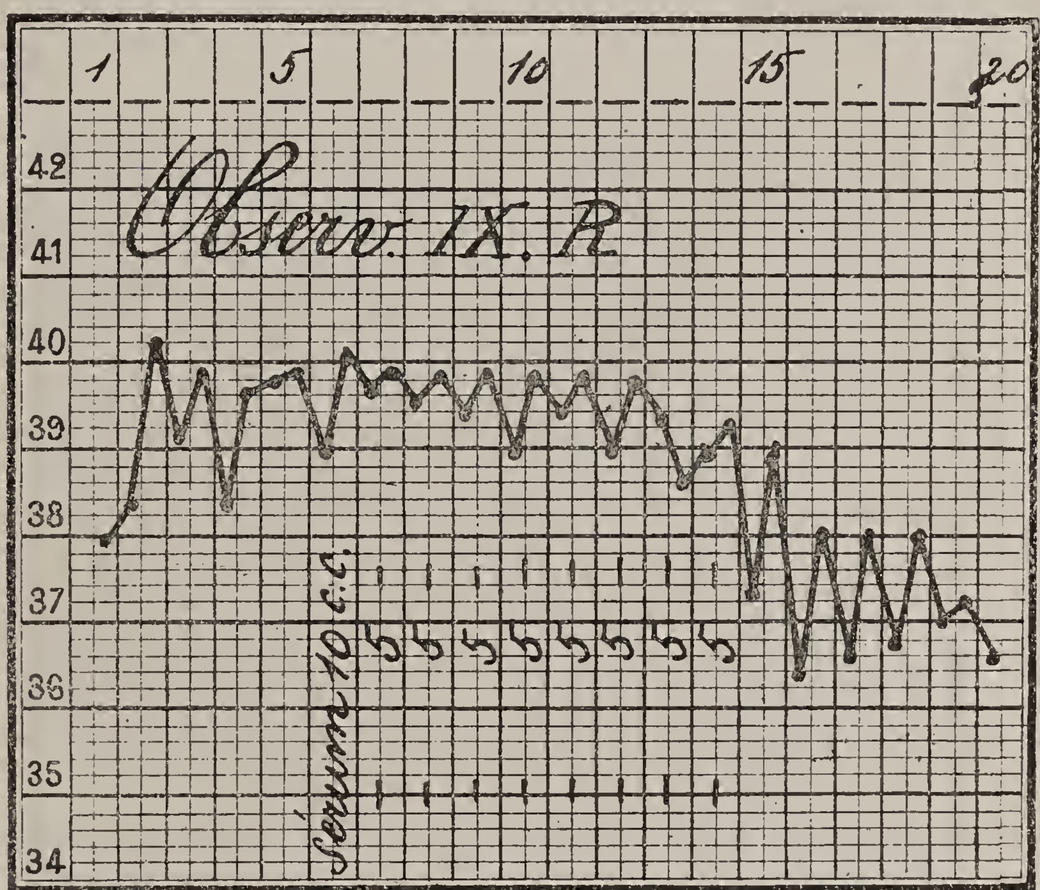
Recherche du spirille de l'hématozoaire, négative. *L'inoculation au cobaye du sang de ce malade a provoqué un typhus expérimental caractéristique.*

Observation IX. — Le R..., trente-quatre ans, second maître infirmier, Hôpital complémentaire n° 1. A été porteur de poux.

N'a pas été vacciné contre la fièvre typhoïde, mais a eu, lui aussi, cette maladie à l'âge de vingt ans.

Début brusque le 1er mars, après une huitaine de jours d'indisposition par de la céphalée et de la fièvre.

Entre à l'hôpital le 5 mars au matin, avec les symptômes suivants : fièvre continue depuis 5 jours, oscillant entre 39° et 40°, avec crochet à 38° le qua-



Courbe 22.

trième jour. Céphalée frontale. Insomnie. Constipation. Légère injection conjonctivale. Rougeur diffuse du pharynx. Langue saburrale, un peu sèche. Foie et rate normaux. Pas de symptômes abdominaux. Eruption très abondante de taches roses, surélevées, généralisée à tout le tégument. Pouls rapide : 98, cœur un peu sourd.

Séro-diagnostic et hémoculture négatifs. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

Le lendemain, l'exanthème est très net, pétéchial; taches violacées et marbrures. Le délire apparaît; la langue est rôtie, trémulante, les gencives saignantes, bouche fuligineuse. Le pouls est petit, rapide : 100; le cœur est nettement embryocardique. Urines assez abondantes : 2 litres, mais renfermant une forte proportion d'albumine et du sang. Hyperesthésie cutanée. Selles et urines involontaires. L'état du malade est assez inquiétant.

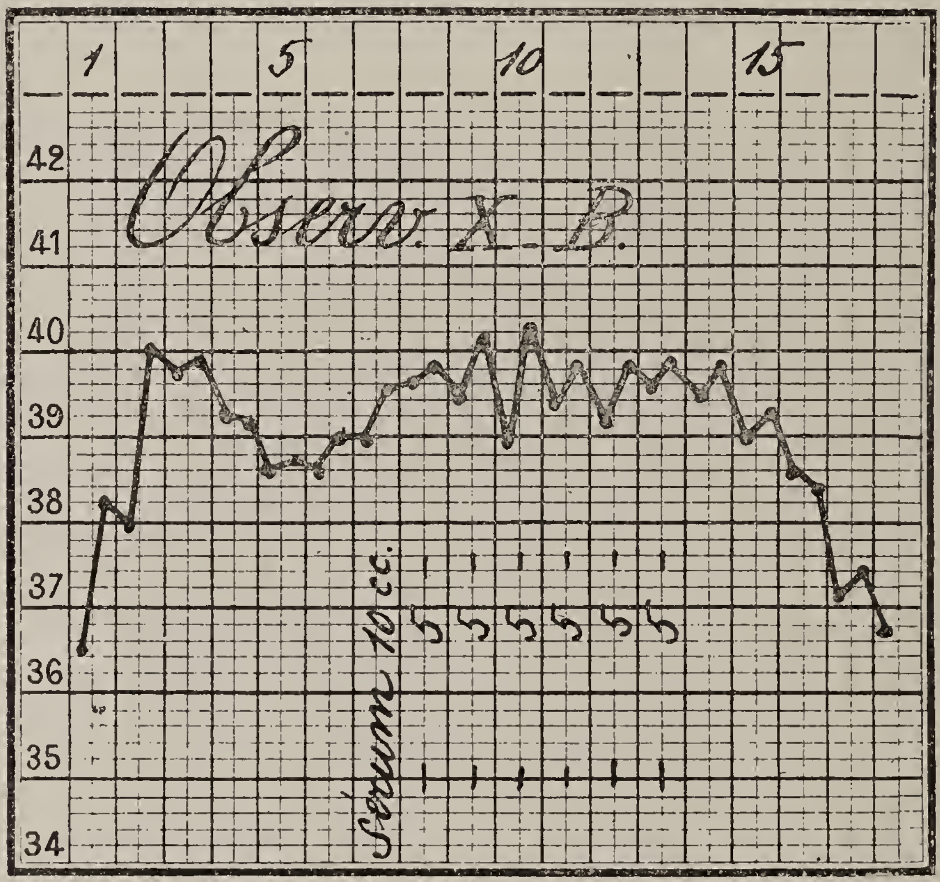
On pratique une injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique. Les 7, 8, 9, 10 mars, injection de 5 cent. cubes de sérum.

Le 11 mars, 11e jour de la maladie, l'état du malade qui, jusqu'alors, n'avait pas paru modifié, présente une amélioration sensible; le délire a disparu, la langue est humide, les urines sont abondantes; il n'y a plus d'incontinence des matières. La température est toujours élevée. Dernière injection de 5 cent. cubes le 11 mars. (*Courbe 22.*)

L'amélioration se poursuit les jours suivants, la température s'abaisse avec quelques oscillations et le malade entre en convalescence.

Observation X. — B..., vingt et un ans, matelot infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 2, salle 13.

Vacciné contre la fièvre typhoïde, a été porteur de poux.



Courbe 23.

Début brusque, en pleine santé, le 4 mars, par des courbatures et de la fièvre.

Entre à l'hôpital le 6 mars : fièvre continue aux environs de 40°. Céphalée, insomnie. Légère injection conjonctivale. Constipation. Langue un peu sèche. Foie et rate normaux; pas de symptômes abdominaux. Facies rouge, vultueux, rougeur diffuse du pharynx, surdité.

L'éruption apparaît le 8 mars, discrète sur le pourtour des aisselles, les cuisses, la poitrine, le dos et se fonce les jours suivants.

Séro-diagnostic et hémoculture négatifs. Recherche du spirille d'Obermeier et de l'hématozoaire, négative.

Injection de sérum antiexanthématique, 10 cent. cubes le 10 mars (au 6e jour de la maladie); 5 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 16 mars.

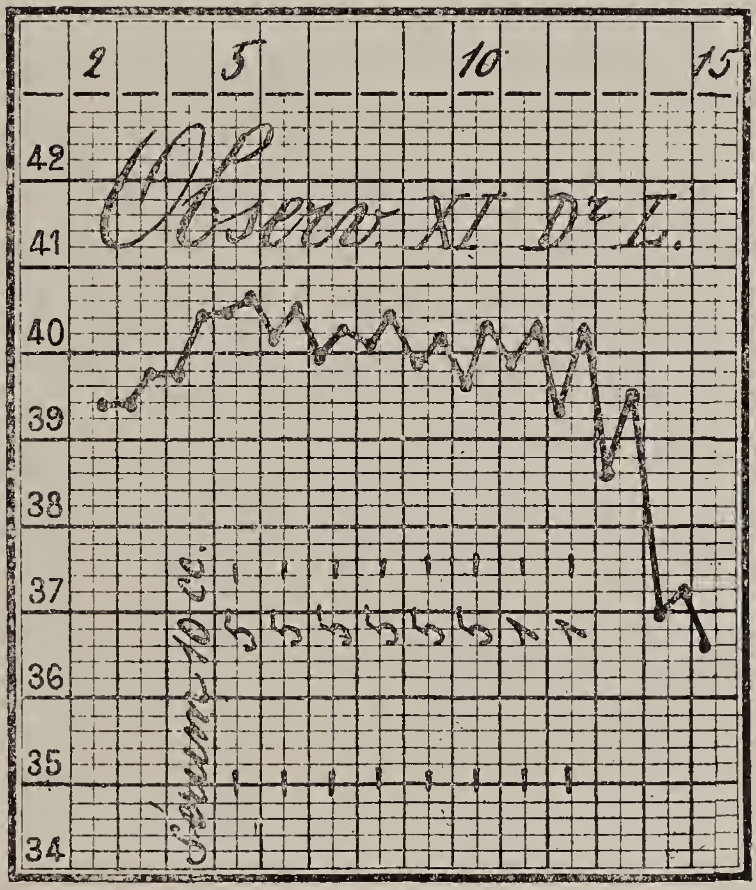
La maladie évolue d'une façon remarquablement bénigne, sans délire ni stupeur, sans aucun symptôme inquiétant et la défervescence survient le 19 mars, au 15e jour de la maladie. (*Courbe 23.*)

Observation XI. — Dr L..., trente et un ans, médecin de 1re classe de la marine. Hôpital complémentaire n° 2. Vacciné contre la fièvre typhoïde.

M. L... est le chef du service qui a déjà envoyé à l'hôpital trois infirmiers atteint de typhus. Comme tous les médecins qui ont soigné les Serbes, il a été porteur de poux.

Se sentait indisposé depuis quelques jours, quand, le 9 mars au soir, il est pris subitement de malaise général avec fièvre et céphalée.

Entre à l'hôpital le 11 mars. On note : température élevée, en plateau aux environs de 40°. Céphalée frontale intense. Constipation. Insomnie. Légère injection conjonctivale, rougeur diffuse du pharynx. Présence sur tout le tégument d'une éruption d'éléments roses, surélevés, extrêmement abondants. Pas de symptômes abdominaux. Foie et rate normaux. Pouls rapide : 94. Le cœur présente à la base un roulement au premier bruit. Toux sèche,



Courbe 24.

quinteuse, sans signes stéthoscopiques. Légère excitation. Urines rares, chargées. Langue un peu sèche.

Hémoculture négative. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

L'intensité des symptômes généraux et l'abondance de l'éruption doivent faire porter un pronostic sévère.

M. L... a suivi nos précédentes expériences avec le sérum antiexanthématique et a été très frappé des résultats obtenus. Il sait de quelle affection il est atteint; son moral est néanmoins excellent et il se montre plein de confiance dans les résultats du traitement.

Première injection de 10 cent. cubes le 11 mars. Le lendemain, le malade accuse une amélioration sensible. Il a un peu dormi la nuit. L'excitation a disparu. La céphalée est moindre, les urines sont plus abondantes, la langue est humide.

On pratique les jours suivants, du 12 au 17 mars, une injection quotidienne de 5 cent. cubes de sérum.

La maladie évolue d'une façon remarquablement bénigne, bien que la température ne paraisse pas modifiée et sans aucun symptôme inquiétant. Il n'y a ni stupeur, ni délire ; la céphalée disparaît, le sommeil revient rapidement. La langue reste humide, à peine saburrale. Les urines sont abondantes, le cœur et le pouls énergiques. L'éruption, très abondante et violacée du début, disparaît peu à peu et est à peine visible le 17 mars (9e jour de la maladie).

La défervescence survient enfin, trois jours plus tard, le 20 mars et le malade entre en convalescence. (*Courbe 24.*)

Les observations qui suivent nous ont été communiquées par M. le Dr Scoarnec, médecin traitant à l'annexe serbe de l'Hôpital maritime permanent de Sidi-Abdallah.

C'est seulement à la fin de février que des cas de typhus purent être diagnostiqués avec certitude chez des soldats serbes en traitement à Sidi-Abdallah.

L'évolution de cette maladie ayant été en général assez bénigne chez les Serbes, et notre provision de sérum étant limitée, nous avons réservé le traitement par le sérum à quelques cas très graves, dans lesquels une issue fatale paraissait à redouter. Là, encore, les résultats ont été remarquables.

Observation XII. — D. M..., soldat serbe. A été porteur de poux. Non vacciné contre la fièvre typhoïde.

En traitement à l'hôpital depuis le 9 février pour fatigue générale, est pris brusquement, le 28 février, de fièvre avec céphalée, constipation, injection conjonctivale, insomnie. Langue saburrale sèche; pas de symptômes abdominaux, foie et rate normaux.

Séro-diagnostic négatif pour la fièvre typhoïde et les paratyphoïdes. Hémoculture négative.

Apparition, le 22 mars, d'un exanthème discret, violacé, sur le pourtour des aisselles et la poitrine. Délire.

Le 3 mars, aggravation subite de l'état général; le malade semble dans le coma. Selles et urines involontaires, sueurs profuses. Langue sèche, rôtie, ataxique. État typhique très prononcé. Dyspnée intense : 40. Pouls petit, irrégulier, extrêmement rapide : 130. Cœur lointain embryocardique. Raideur de la nuque. Trismus.

L'état du malade semblant désespéré, on pratique une injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique.

Le lendemain, chute de la température de près de 2° avec amélioration considérable de l'état général; le malade a repris connaissance et s'alimente seul. Disparition des symptômes méningés. Plus de dyspnée. Le pouls est encore rapide, mais régulier et mieux frappé. La langue est humide.

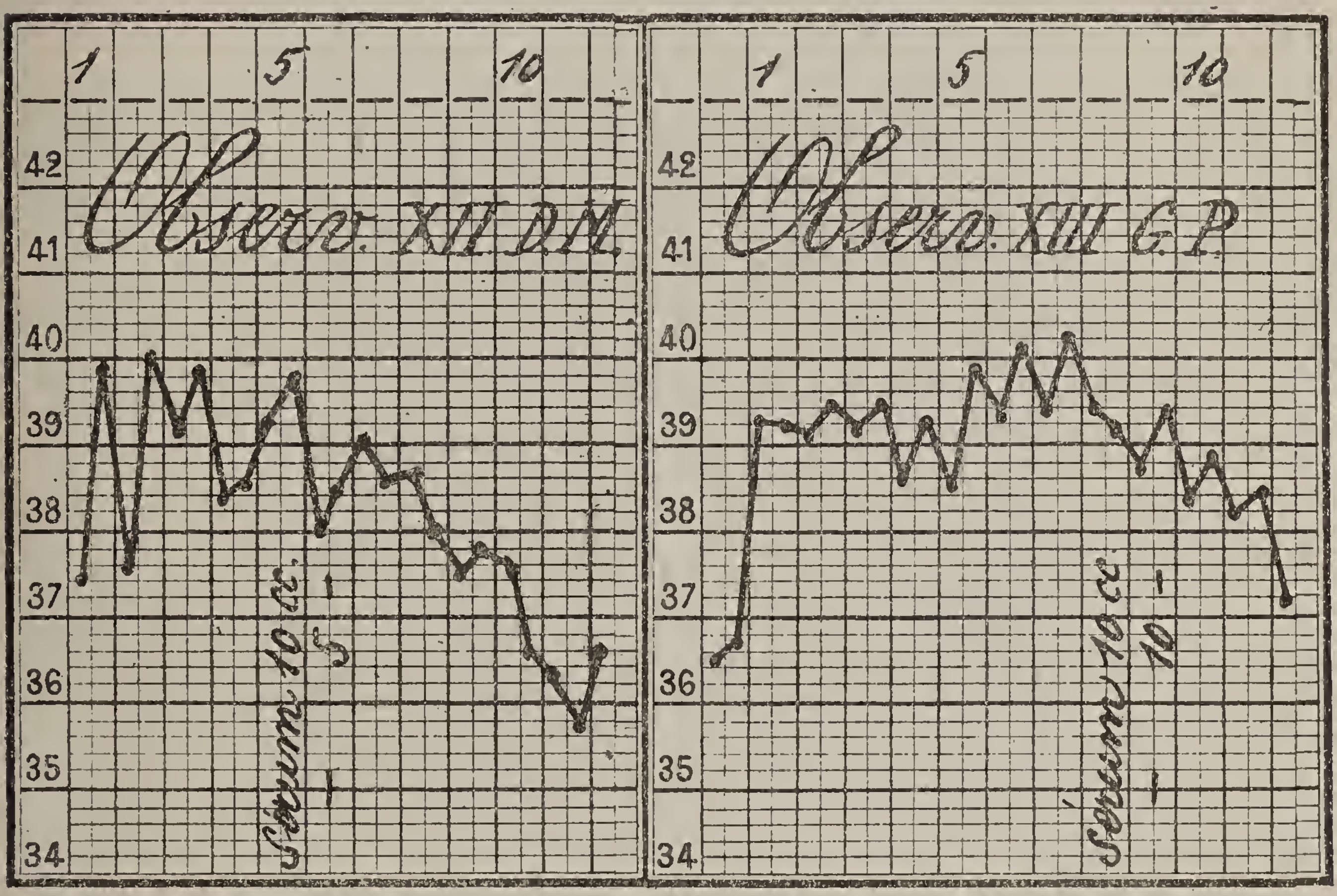
Deuxième injection de 5 cent. cubes de sérum le 4 mars.

Le 5, l'amélioration se maintient; la langue se nettoie, les urines sont abondantes (*Courbe 25*).

Il n'est plus fait de nouvelle injection; la défervescence se poursuit les jours suivants et le malade entre en convalescence.

Observation XIII. — G. P..., sergent serbe. N'a pas été vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 13 mars, dans l'état suivant : fièvre continue depuis 4 jours avec constipation, céphalée, légère injection conjonctivale, insomnie,



Courbe 25. Courbe 26.

langue saburrale sèche; rate et foie normaux; pas de symptômes abdominaux. Présence d'un exanthème très net sur le tronc et les membres.

Séro-diagnostic négatif. Hémoculture négative. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

Le 18 mars, 8e jour de la maladie, l'état du malade s'est aggravé et inspire de vives inquiétudes : état typhique très prononcé. Langue sèche. Pouls petit, rapide; cœur embryocardique. Dyspnée. Délire violent. L'éruption est nettement pétéchiale.

On pratique une injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique le 18 mars au matin.

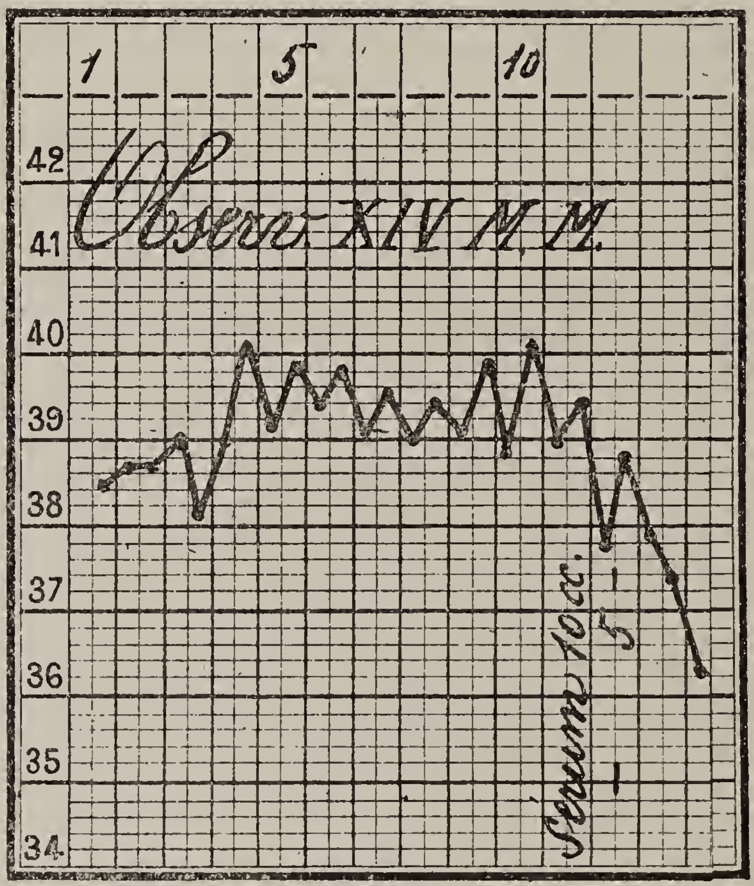
Le lendemain, chute de la température : 38°8. Les symptômes généraux sont très améliorés.

Deuxième injection de 5 cent. cubes le 19 mars. (*Courbe 26.*)

La défervescence se poursuit les jours suivants, l'état général se relève et le malade entre en convalescence le 21 mars, au 12e jour de la maladie.

Observation XIV. — M. M..., adjudant serbe. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 13 mars. Début brusque 7 jours auparavant par de la fièvre, de la céphalalgie, de la constipation, de l'insomnie. A l'arrivée, on note : température élevée en plateau, entre 39° et 40°. Céphalée, légère injection conjonctivale. État typhique prononcé; constipation, langue sèche, rôtie. Délire. Exanthème très net, généralisé à tout le tégument : taches



Courbe 27.

violacées et marbrures. Pas de symptômes abdominaux. Foie et rate normaux.

Hémoculture négative. Séro-diagnostic, recherche du spirille, négatifs.

Le 17 mars, l'état du malade est très inquiétant : stupeur profonde, langue sèche, trémulante, pouls petit, rapide. Dyspnée. Raideur de la nuque et des membres. Soubresauts tendineux. Délire, sueurs. Selles et urines involontaires. L'éruption est nettement pétéchiale.

Injection de 10 cent. cubes de sérum antiexanthématique le 17 mars. Le lendemain, chute de la température de près de 2°, avec amélioration considérable de l'état général. La température se relève un peu le soir.

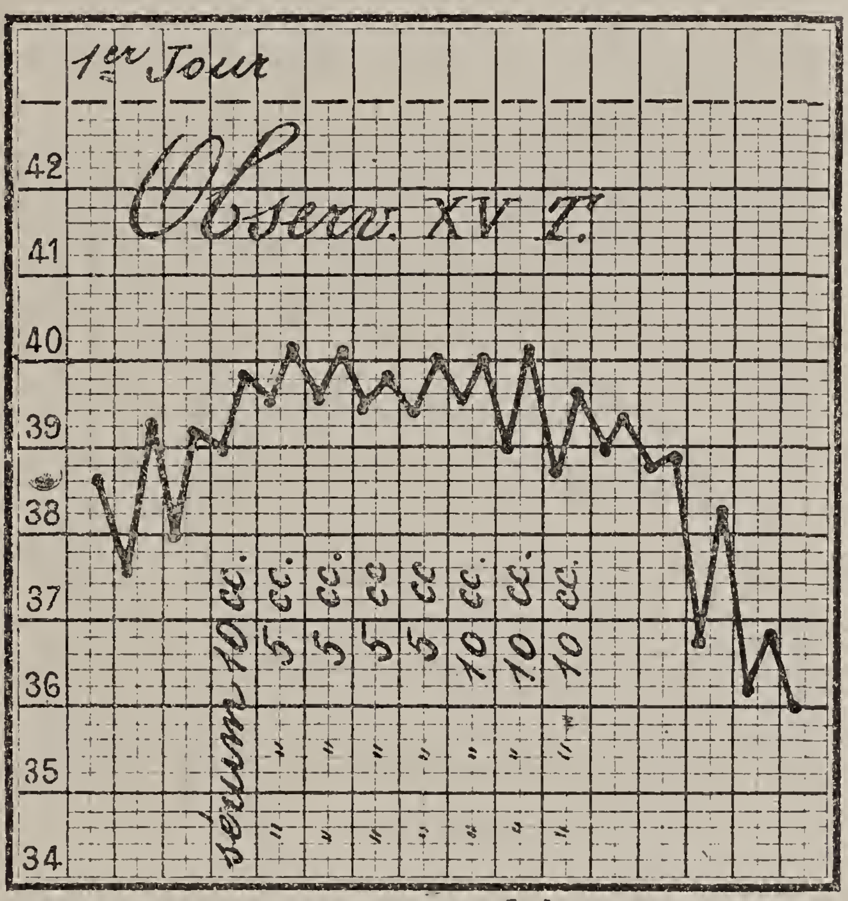
Deuxième injection de 5 cent. cubes de sérum le 18 au soir. Nouvelle chute de la température le lendemain. (*Courbe 27.*)

A partir de ce moment, la défervescence se poursuit régulièrement et le malade entre en convalescence.

D. — **Observations du Dr R. Potel, médecin de 1re classe de la Marine, médecin traitant de l'Hôpital permanent de Sidi-Abdallah (Tunisie).** — Troisième série de 17 cas.

Observation XV. — T..., vingt-deux ans, matelot infirmier à l'Hôpital temporaire no 1. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux. Début brusque le 19 mars, après 2 ou 3 jours de fatigue générale, par de la fièvre avec céphalée.

Entre à l'hôpital le 22 mars. A cette date, on note : fièvre continue élevée avec légère stupeur et céphalée frontale intense, insomnie, tendance à la



Courbe 28.

constipation, facies vultueux, légére injection conjonctivale, langue saburrale un peu sèche, pas de symptômes abdominaux, foie et rate normaux, toux sèche, quinteuse, sans signes stéthoscopiques. Pouls petit, rapide : 114. Présence d'un exanthème très abondant, rose violacé, généralisé à tout le tégument. Enanthème buccal très net. Urines peu abondantes, chargées.

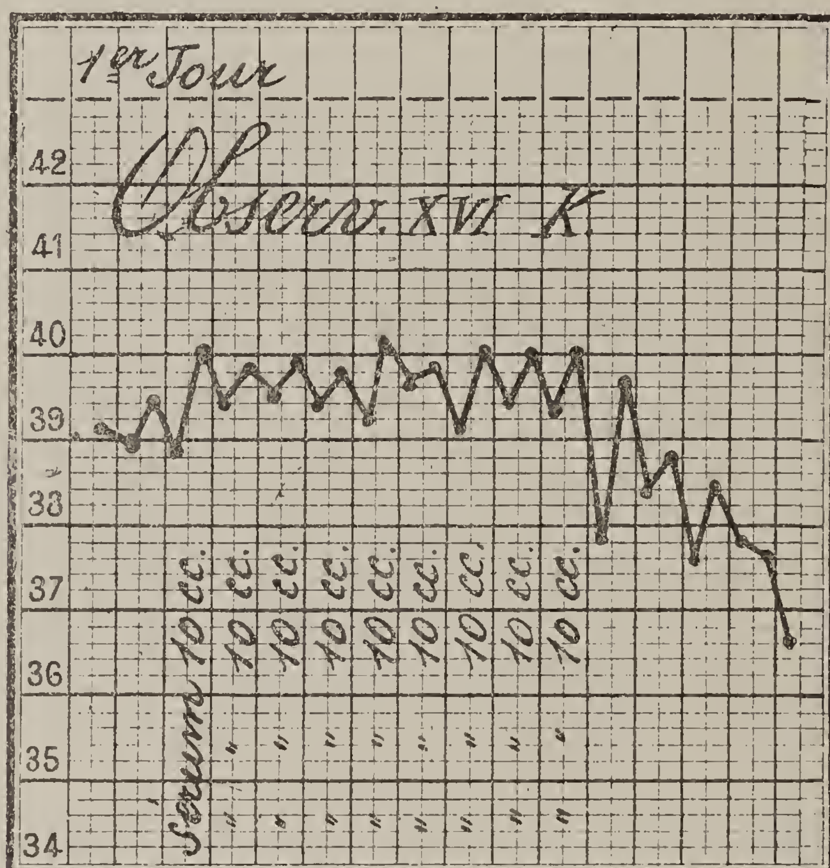
Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative; hémoculture, rien ne pousse.

On commence le jour même le traitement par le sérum antiexanthématique : première injection de 10 cent. cubes le 22 mars (4e jour de la maladie), injection de 5 ou 10 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 29 mars.

Dès le lendemain de la première injection, le malade accuse une amélioration sensible; il se sent mieux, la céphalée est moindre, il a un peu dormi la nuit. Les urines sont plus abondantes, le pouls est moins rapide : 100. La langue est humide. La maladie évolue les jours suivants d'une façon remarquablement bénigne, sans aucun symptôme inquiétant. La température ne présente à aucun moment le plateau habituel du typhus; mais, au contraire,

elle accuse, dès le début du traitement, des oscillations quotidiennes de près de 1°. Il n'y a ni stupeur, ni délire. La langue reste constamment humide. La céphalée, l'insomnie disparaissent rapidement. Les urines atteignent bientôt 3 et 4 litres. Le pouls et le cœur restent bons. Il n'y a pas d'évacuations involontaires. La défervescence, esquissée le 11e jour (38°7), survient définitivement le 1er avril et le malade entre en convalescence. Aucune complication. (*Courbe 28.*)

Observation XVI. — K..., vingt-deux ans, matelot infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 1. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux. Début le 24 mars par de la céphalée et de la fièvre. Se sentait indisposé depuis la veille.



Courbe 29.

Entre à l'hôpital le 26 mars (3e jour de la maladie), présentant les symptômes suivants : fièvre continue, élevée avec stupeur et céphalée frontale intense ; insomnie, légère injection conjonctivale, facies vultueux, langue très saburrale, un peu sèche ; constipation, sans autres symptômes abdominaux. Foie et rate normaux. Présence d'un exanthème très abondant généralisé. Léger énanthème buccal. Pouls rapide, hypotendu. Cœur assez bien frappé. Urines de moyenne abondance, très chargées.

Hémoculture, rien ne pousse. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On commence le traitement par le sérum antiexanthématique le jour même de l'entrée du malade à l'hôpital (3e jour de la maladie). Première injection : 10 cent. cubes le 26 mars. Injections quotidiennes de 10 cent. cubes les jours suivants.

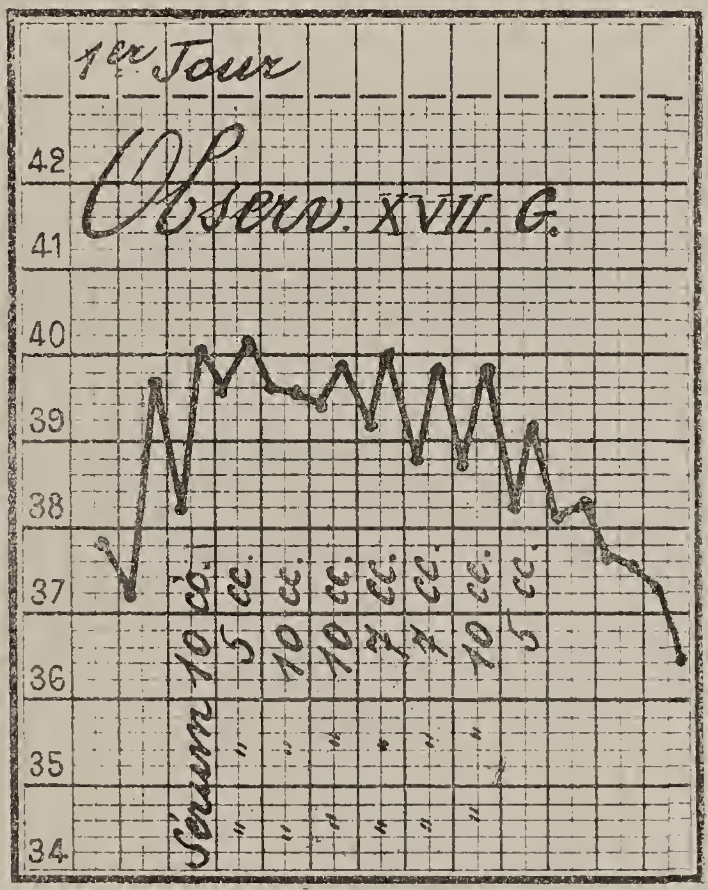
L'évolution de la maladie rappelle en tous points celle du malade précédent; la température oscille constamment, sans plateau. L'état général reste satisfaisant, bien que l'éruption soit extrêmement abondante et devienne

pétéchiale. On ne relève aucun symptôme nerveux, en dehors d'une légère somnolence. Le pouls et le cœur restent bons. Les urines sont abondantes.

La défervescence s'annonce le 4 avril, au 12e jour de la maladie (37°9) et se poursuit les jours suivants. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune complication (*Courbe 29*).

Observation XVII. — G..., vingt-quatre ans, matelot infirmier à l'hôpital Notre-Dame-de-Sion de Bizerte. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 28 mars, au 3e jour d'un typhus d'allures graves, en



Courbe 30.

raison de l'intensité des symptômes généraux et de l'abondance de l'éruption. Celle-ci devient bientôt presque confluente et envahit tout le tégument, y compris les mains et les pieds.

Hémoculture, rien ne pousse. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

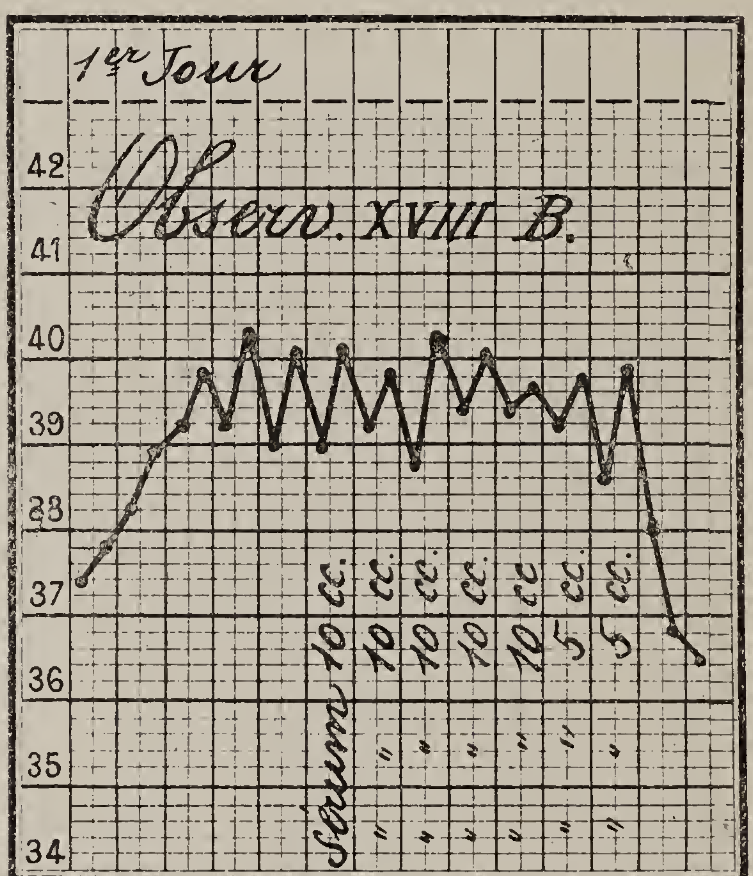
On commence le traitement par le sérum antiexanthématique le jour même de l'entrée du malade à l'hôpital (3e jour de la maladie) : première injection (10 cent. cubes) le 28 mars ; injections de 7 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 3 avril.

Dès le lendemain de la première injection, on note une amélioration sensible de l'état général. La maladie évolue les jours suivants d'une façon très bénigne, sans aucun symptôme inquiétant : les symptômes nerveux sont totalement absents. La langue reste humide. Les urines sont abondantes. La température présente, dès le début du traitement, de grandes oscillations quotidiennes de plus de 1°. L'éruption s'efface peu à peu et est à peine visible le 3 avril. La défervescence se produit enfin le 4 avril, au 10e jour de la maladie, et le malade entre en convalescence. Pas de complications. (*Courbe 30.*)

Observation XVIII. — M. B..., vingt-deux ans, médecin auxiliaire de la marine à bord du navire-hôpital *Sphinx*, bâtiment qui assure le transport des malades serbes de Corfou à Sidi-Abdallah. Vacciné contre la fièvre typhoïde; a été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 28 mars, au 6e jour de la maladie, présentant les symptômes bien nets d'un typhus grave; l'éruption est extrêmement abondante et recouvre tout le tégument, y compris les membres. La langue est très sèche, rôtie. Les urines sont peu abondantes : 600 grammes par 24 heures. Céphalée très prononcée; stupeur; le moral du malade est mauvais.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.



Courbe 31.

On commence le traitement par le sérum antiexanthématique le jour même de l'entrée de l'hôpital : première injection de 10 cent. cubes le 28 mars (6e jour de la maladie). Injection de 10, puis 5 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 3 avril. Dès le lendemain de la première injection, on note une amélioration sensible; le malade a un peu dormi, la stupeur a disparu, la céphalée est moindre, la langue est humide, les urines sont plus abondantes.

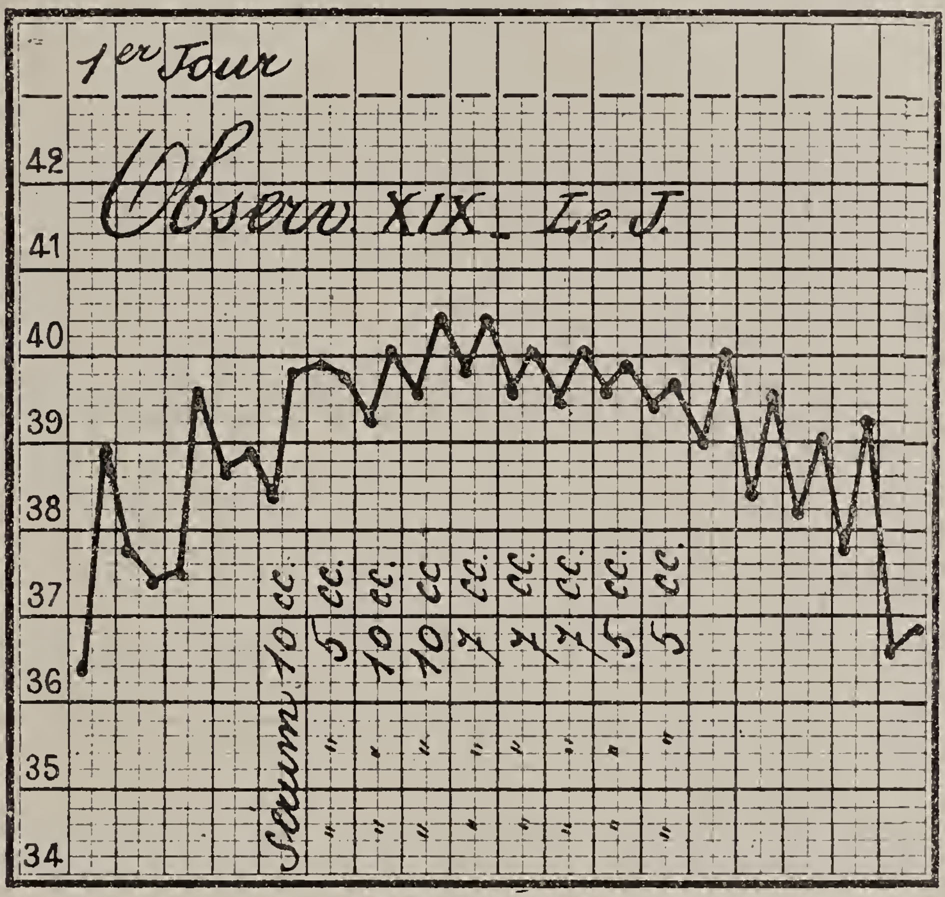
L'évolution de la maladie se poursuit les jours suivants d'une façon remarquablement bénigne; la température présente chaque jour de grandes oscillations de plus de 1°; il n'y a aucun symptôme nerveux; les urines atteignent rapidement 3, puis 4 litres. L'éruption s'efface peu à peu, puis disparaît complètement le 2 avril. La défervescence survient enfin le 4 avril, au 12e jour de la maladie et le malade entre en convalescence. Pas de complications. (*Courbe 31.*)

Observation XIX. — Le J..., vingt-cinq ans, matelot infirmier à bord du *Sphinx*. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 28 mars, malade depuis 5 jours. Cet homme est atteint d'un typhus grave, avec symptômes généraux très accusés et éruption généralisée extrêmement abondante. La température, après un crochet le 4e jour, est en plateau aux environs de 40.

Hémoculture, rien ne pousse. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On pratique une première injection de 10 cent. cubes, le jour même de l'entrée à l'hôpital (3e jour de la maladie). Cette injection est suivie le lendemain d'une légère amélioration de l'état général.



Courbe 32.

Injections de 10 ou 5 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 5 avril. Comme dans les cas précédents, la maladie évolue d'une façon très bénigne; l'état général reste satisfaisant. Il n'y a pas de symptômes nerveux. La température cesse d'être en plateau et oscille dès la deuxième injection. Le pouls et le cœur restent constamment bons et ne dépassent pas 80, l'éruption pâlit.

La défervescence, retardée par la présence d'un peu de congestion pulmonaire, s'annonce le 15e jour (38°4) et se poursuit les jours suivants. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune complication. (*Courbe 32.*)

Observation XX. — R..., vingt-six ans, matelot aide-infirmier du *Sphinx*. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

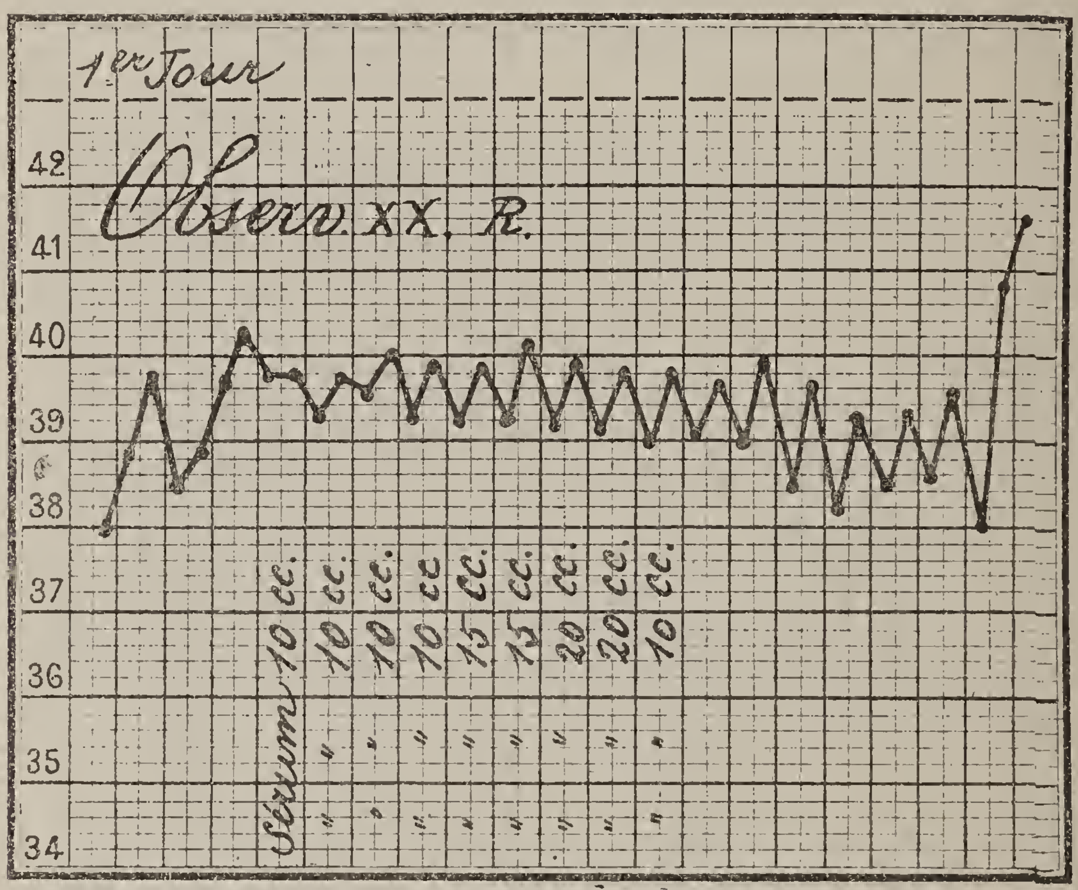
Entre à l'hôpital le 30 mars 1916, au 5e jour d'un typhus grave, avec symptômes généraux très accusés et exanthème extrêmement abondant, généralisé à tout le tégument. Enanthème buccal net. Stupeur profonde avec

adynamie. Langue sèche; pouls petit, rapide (120); cœur embryocardique, voix cassée, assourdie; urines peu abondantes : 800 grammes par 24 heures; râles de congestion aux bases. La température, après un crochet le 3e jour, est en plateau aux environs de 40°.

Hémoculture, rien ne pousse. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

Cet homme est un ancien tuberculeux, ayant déjà fait plusieurs séjours dans les hôpitaux pour bronchite des sommets et hémoptysies.

On pratique une première injection de 10 cent. cubes de sérum, le jour même de l'entrée à l'hôpital (5e jour de la maladie). Injections quotidiennes de 10 cent. cubes les jours suivants, jusqu'au 7 avril.



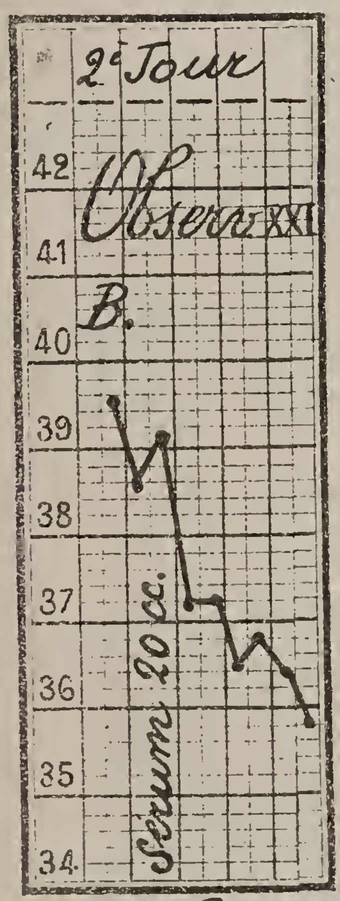
COURBE 33.

Dès les premières injections, la température cesse d'être en plateau et présente des oscillations de près de 1°. La langue redevient humide. Les urines atteignent rapidement 2 litres, puis 2 lit. 500. La stupeur disparaît; il n'y a pas de délire. Toutefois, l'adynamie persiste et va s'accentuant jusqu'au 4 avril; à cette date, l'état du malade est assez inquiétant; le pouls est à 140, à peine perceptible, le cœur est sourd, lointain, embryocardique. Il y a de la laryngite et une dyspnée intense (46) avec nombreux râles de congestion dans les deux poumons. Les symptômes cérébraux font néanmoins complètement défaut et le malade a toute sa connaissance. Il s'alimente facilement et les urines sont assez abondantes, quoiqu'il y ait rétention. Cet état persiste jusqu'au 7 avril. A cette date (13e jour de la maladie), une amélioration sensible de l'état général survient; le pouls est plus énergique, moins rapide (100); la dyspnée est moindre; les oscillations de la température sont plus marquées; les urines très claires atteignent 3 litres. L'éruption a disparu. Le malade semble hors de danger et on suspend les injections de sérum. Malheureusement, une injection d'huile cam-

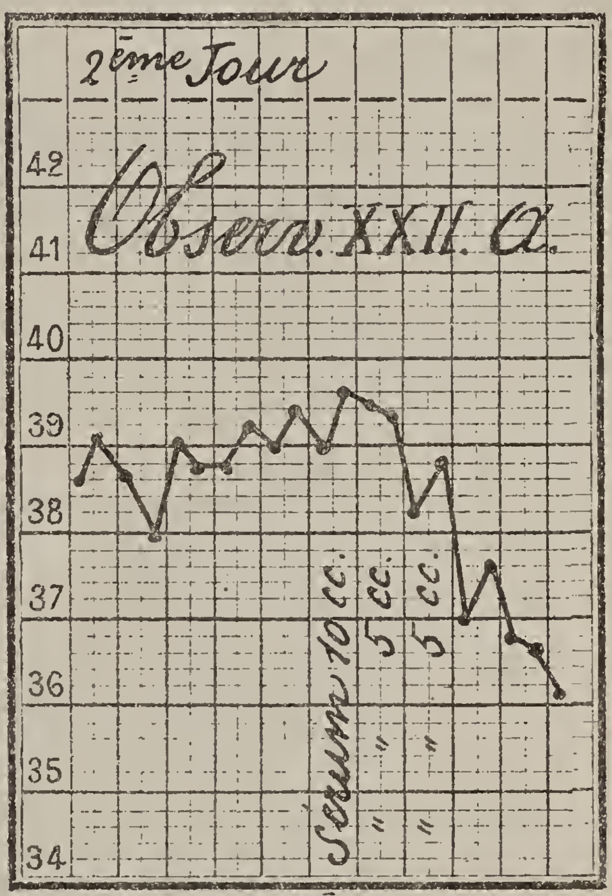
phrée, pratiquée à l'avant-bras droit, a provoqué la formation d'un vaste phlegmon. La défervescence ne se produit pas franchement, bien que la température descende chaque matin aux environs de 38°. Malgré des incisions précoces avec drainage, l'infection gagne peu à peu tout le membre supérieur. Un second phlegmon se produit dans les mêmes conditions à l'avant-bras gauche et le malade meurt de septicémie, le 15 avril 1916, après 21 jours de maladie. (*Courbe 33.*)

Observation XXI. — B..., vingt-six ans, matelot infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 1. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 31 mars 1916, au troisième jour de maladie. Il présente



Courbe 34.



Courbe 35.

une fièvre continue élevée avec céphalée frontale, stupeur, constipation, insomnie, injection conjonctivale. Exanthème discret au pourtour des aisselles et au dos ; énanthème buccal net. Abolition des réflexes cutanées.

Hémoculture, rien ne pousse ; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On pratique une injection de 20 cent. cubes de sérum, le jour même de l'entrée à l'hôpital, 3e jour de maladie.

Le lendemain, chute brusque de la température qui tombe de 39° à 37°2 avec amélioration considérable de l'état général.

Il n'est plus fait de nouvelles injections et la convalescence commence. (*Courbe 34.*)

Le diagnostic de typhus a été confirmé chez ce malade par la présence de troubles caractéristiques dans la convalescence : hypothermie passagère, amaigrissement hors de proportion avec la gravité apparente et la durée de l'affection, troubles du sommeil, douleurs nocturnes dans les jambes, raideur de la marche, signe de Romberg, abolition des réflexes cornéen et pha-

ryngien, exagération des réflexes tendineux. Cet ensemble de symptômes se retrouve dans la convalescence de tous les cas de typhus, même les plus bénins et peut être considéré, à notre avis, comme la signature de l'affection.

Observation XXII. — Ahmed-ben-Mohamed, vingt-six ans, matelot *baharia*, détaché à l'Hôpital maritime, où il assure le service des trains sanitaires. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

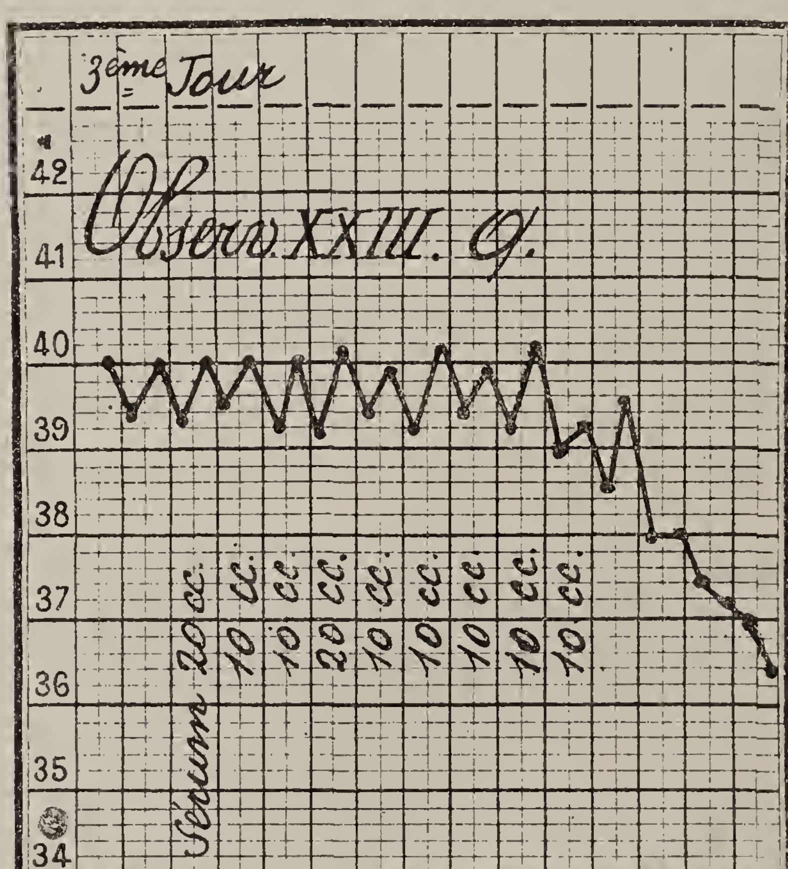
Cet homme arrive dans notre service le 3 avril 1916, au 7e jour d'un typhus de moyenne gravité avec exanthème discret et état typhique assez prononcé. La température présente un crochet le 3e jour et oscille autour de 39°5.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On pratique le jour même une injection de 10 cent. cubes de sérum (7e jour de maladie). Injections de 5 cent. cubes le 4 et le 5 avril.

L'état général s'améliore rapidement et la défervescence survient le 5 avril, au 9e jour de la maladie. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune complication. (*Courbe 35*).

Observation XXIII. — Q..., trente-deux ans, quartier-maître chauffeur à bord du torpilleur « *3613* ». Vacciné contre la fièvre typhoïde. Entre à l'hôpital le 1er avril 1916, avec le diagnostic d'embarras gastrique fébrile. Cet



Courbe 36.

homme prétend n'avoir jamais eu de poux, mais ses affirmations doivent être suspectées. Il paraît avoir contracté son affection à Bône, où des cas de typhus ont été constatés, au cours d'un séjour fait dans cette ville par son bâtiment du 10 au 21 mars.

Il est envoyé dans notre service le 3 avril, au 5e jour d'un typhus grave, avec

exanthème très abondant, généralisé et symptômes généraux très accusés : insomnie persistante, langue sèche, stupeur profonde avec délire. Le pouls est petit, rapide; les urines sont peu abondantes : 1.600 grammes.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

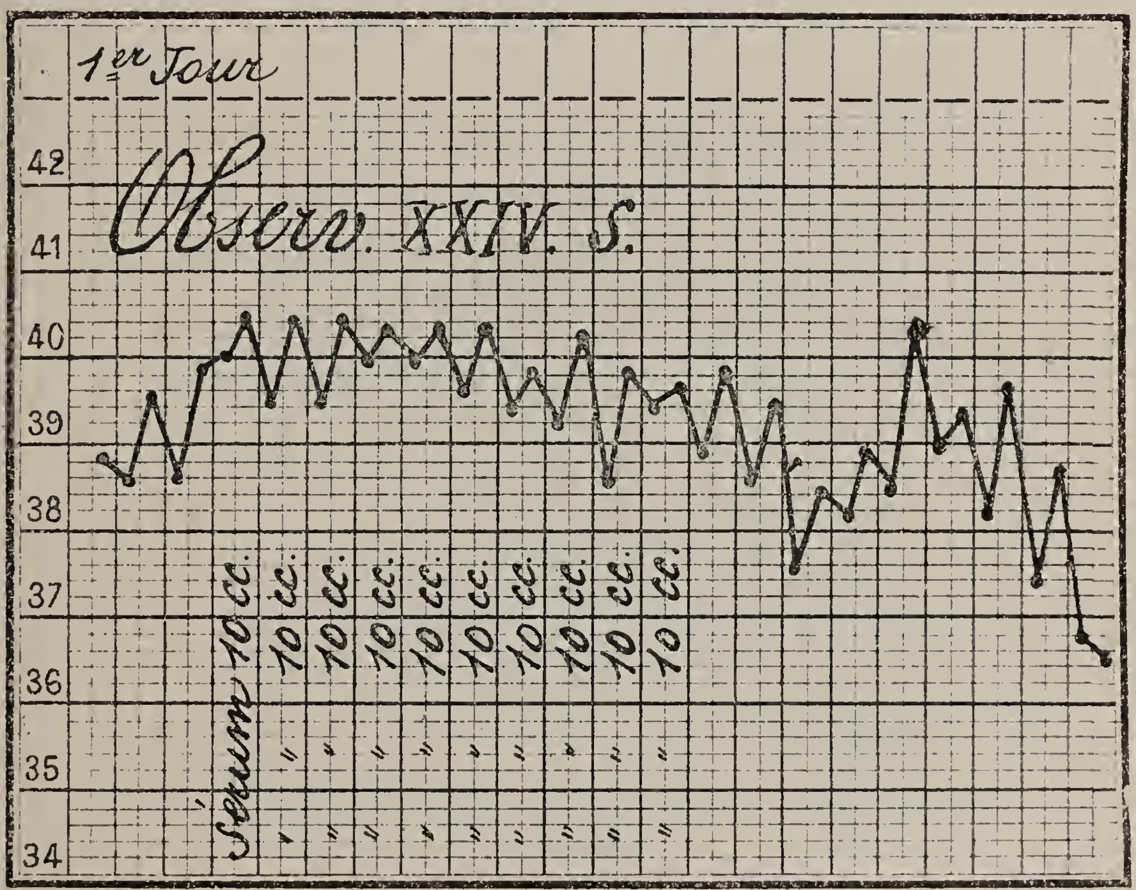
L'inoculation au cobaye du sang de ce malade a provoqué un typhus expérimental caractéristique.

On pratique une 1re injection de 20 cent. cubes de sérum le 3 avril, au 5e jour de la maladie. Cette injection est suivie, le lendemain, d'une légère amélioration de l'état général, la céphalée est moindre, le malade a un peu dormi la nuit, la langue est redevenue humide, les urines sont plus abondantes et atteignent 3 litres; le délire a disparu et fait place à de la somnolence.

Injections de 10 cent. cubes les jours suivants, jusqu'au 11 avril.

La maladie évolue d'une façon bénigne, sans symptômes inquiétants. Le pouls et le cœur restent bons; les urines sont abondantes. La température présente constamment de larges oscillations. Les symptômes nerveux se réduisent à un peu de torpeur avec somnolence continuelle; l'éruption pâlit peu à peu. La défervescence s'annonce le 11 avril, au 13e jour de la maladie et se poursuit les jours suivants. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune complication. (*Courbe 36.*)

Observation XXIV. — S..., vingt cinq ans, matelot aide-infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 1. Vacciné contre la fievre typhoïde. A été porteur de poux.



Courbe 37.

Cet homme entre à l'hôpital le 4 avril 1916, au 4e jour d'un typhus grave, avec état typhique prononcé et exanthème généralisé très abondant, langue saburrale sèche, pouls petit, rapide (100); urines peu abondantes (1.400 gr.

par 24 heures). La température, après un crochet le 3e jour, est en plateau à 40°. Il y a de la congestion pulmonaire et de la laryngite avec voix assourdie, chuchotante.

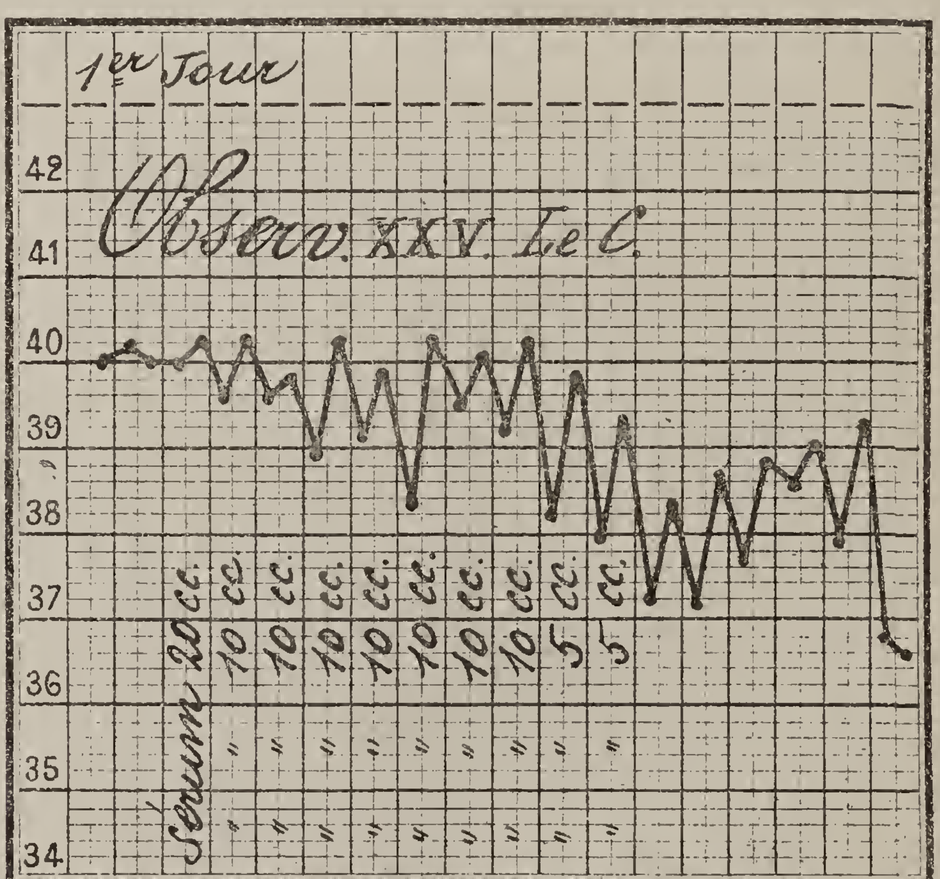
Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On commence le jour même le traitement par le sérum antiexanthématique : 1re injection (10 cent. cubes) le 4 avril 1916. Injections de 10 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 13 avril.

Comme dans les cas précédents, la maladie évolue d'une façon bénigne, bien que l'éruption, presque confluente, envahisse tout le tégument, y compris les membres. La température présente, dès le début du traitement, des oscillations de près de 1°. Les symptômes nerveux n'apparaissent pas; la langue reste humide; le pouls et le cœur sont bons, à 90-96. Les urines atteignent rapidement 2, puis 3 litres. L'éruption disparaît peu à peu. La défervescence s'annonce le 12 avril (38°7), au 12e jour de la maladie, et se poursuit les jours suivants, quoique retardée par la persistance de la congestion pulmonaire. (*Courbe 37.*)

Le malade entre en convalescence et n'a pas présenté d'autre complication.

Observation XXV. — Le C..., vingt-huit ans, matelot aide-infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 2. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.



Courbe 38.

Entre à l'hôpital le 6 avril 1916, au troisième jour d'un typhus d'allures graves, en raison de l'intensité des symptômes généraux et de l'abondance de l'éruption. L'état typhique est très prononcé; il y a du délire avec excitation et trémulation des lèvres. La température est en plateau à 40°, sans oscillations depuis le début de la maladie; les urines sont peu abondantes

(800 gr. par 24 heures) et très chargées; le pouls est rapide, mal frappé; râles de congestion aux deux bases. Le pronostic paraît sévère.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

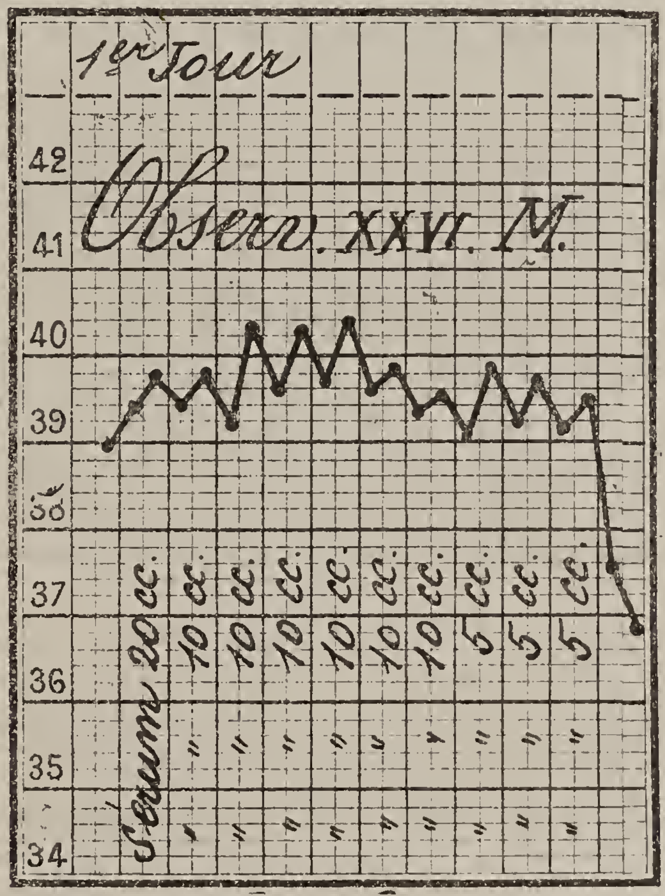
On pratique le jour même une première injection de 20 cent. cubes de sérum, qui est suivie le lendemain d'une légère amélioration de l'état général. Injections de 10 cent. cubes les jours suivants, jusqu'au 15 avril.

La maladie évolue avec une bénignité imprévue. Le délire s'atténue, puis disparaît; l'état général reste satisfaisant; le pouls et le cœur sont bons. Les urines atteignent rapidement 2 litres. La langue reste humide. La température commence à osciller dès le début du traitement et présente des variations quotidiennes de plus de 1°; la courbe est même bientôt complètement déformée et s'abaisse à 38°4, le 8e jour. L'éruption, presque confluente au début, disparaît peu à peu.

La défervescence s'annonce le 11e jour (38°2) et se poursuit les jours suivants, bien que retardée par la persistance de la congestion pulmonaire. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune autre complication. (*Courbe 38.*)

Observation XXVI. — Mohamed-ben-Ali, vingt-six ans, matelot *baharia*, détaché à l'Hôpital maritime, où il assure le service des trains sanitaires. Vacciné contre la fièvre typhoïde. Ne se souvient pas avoir été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 7 avril 1916, au deuxième jour de la maladie.



Courbe 39.

Cet homme présente un typhus sévère, avec symptômes généraux très accusés. L'exanthème apparaît les jours suivants, assez abondant. Température en ascension continue depuis le début de la maladie, au-dessus de 39°.

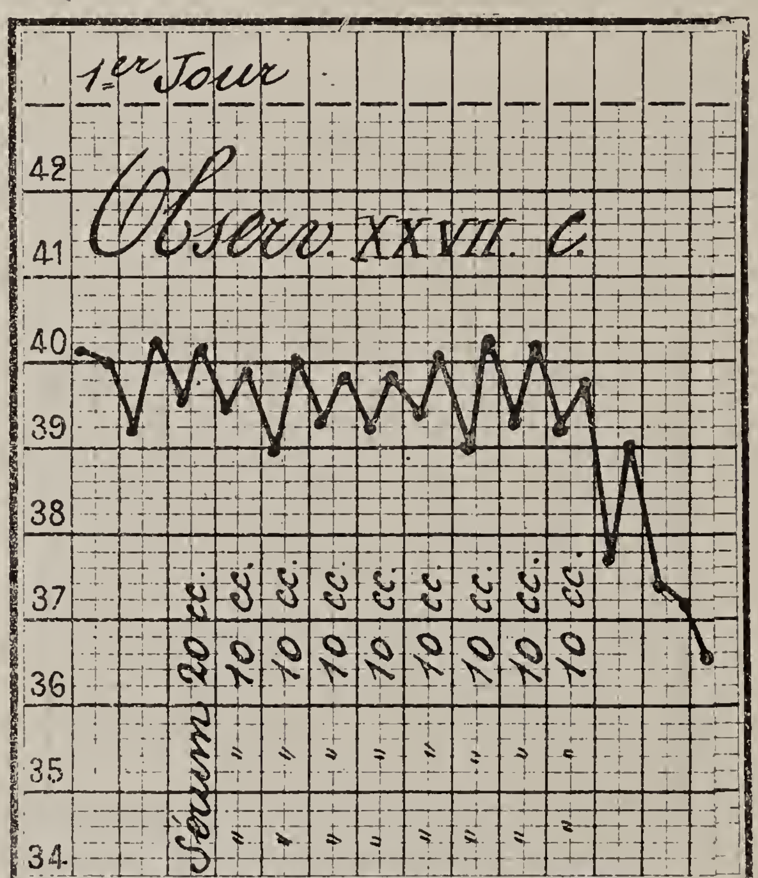
Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

1re injection de 20 cent. cubes de sérum, le 7 avril (2e jour de la maladie). Injections de 10 cent. cubes, puis 5 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 16 avril. La maladie évolue d'une façon très bénigne. Les symptômes généraux s'atténuent peu à peu; il n'y a ni stupeur, ni délire; la langue reste constamment bonne et humide; le pouls et le cœur sont énergiques; les urines dépassent rapidement 3 litres. La température commence à osciller dès le début du traitement et baisse peu à peu.

La défervescence survient enfin le 17 avril, au 12e jour de la maladie, et le malade entre en convalescence. Aucune complication. (*Courbe 39.*)

Observation XXVII. — C..., dix-neuf ans, matelot aide-infirmier à l'Hôpital complémentaire n° 2. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Entre à l'hôpital le 12 avril 1916, au troisième jour d'un typhus grave, avec



Courbe 40.

symptômes généraux très accusés et exanthème abondant généralisé à tout le tégument. Le pouls est petit, rapide (106); les urines, de moyenne abondance (1.600 gr.), sont très chargées. Il y a de l'insomnie persistante depuis le début de la maladie avec un peu d'excitation et une céphalée frontale vive.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

On pratique, le jour même de l'entrée à l'hôpital, une première injection de 20 cent. cubes de sérum (3e jour de la maladie). Injections de 10 cent. cubes les jours suivants jusqu'au 20 avril.

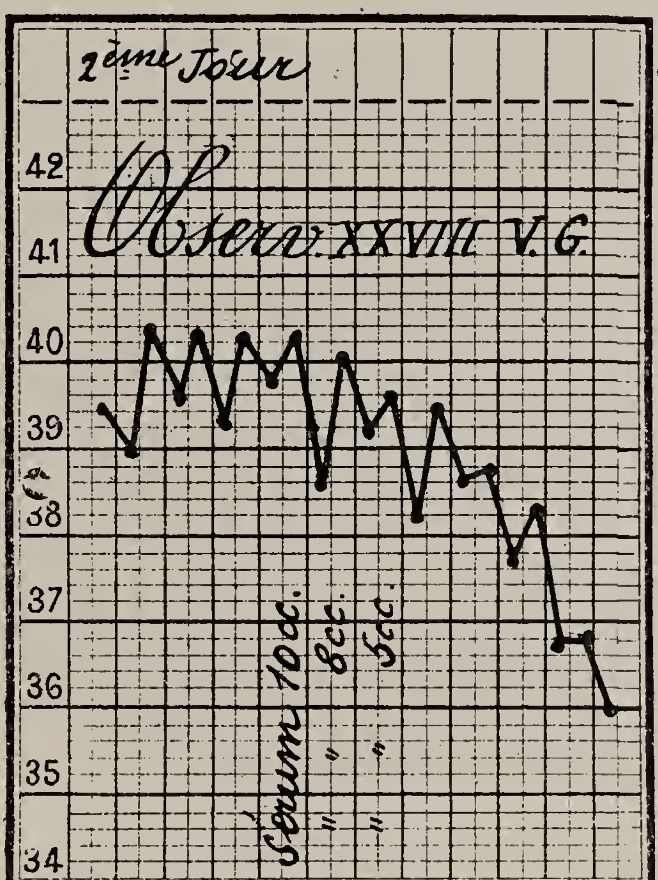
La maladie évolue d'une façon très bénigne. Dès les premières injections,

l'état général s'améliore, le sommeil revient, la céphalée disparaît ; le pouls et le cœur restent bons; les urines atteignent rapidement 2, puis 3 litres. La langue reste humide, à peine saburrale. Il n'y a pas de symptômes nerveux. La température oscille constamment sans plateau, de 1° chaque jour. La défervescence survient enfin le 21 avril, au 12e jour de la maladie (37°8) et se poursuit les jours suivants. Le malade entre en convalescence et n'a présenté aucune complication. (*Courbe 40.*)

Observation XXVIII. — V... J..., vingt-neuf ans, soldat serbe; non vacciné contre la fièvre typhoïde.

Entre à l'hôpital le 26 mars, malade depuis la veille. Début brusque avec céphalée frontale, constipation, insomnie. Pas de symptômes abdominaux ; rate percutable, non hypertrophiée.

Le 23 mars, apparition d'un exanthème très abondant généralisé. Légère



Courbe 41.

injection conjonctivale, stupeur. Séro-diagnostic négatif à l'Eberth et aux paratyphiques. Recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

Le 30 mars, l'état du malade s'est aggravé et inspire de vives inquiétudes : stupeur profonde avec subdélire, insomnie persistante, pouls petit, rapide, mal frappé, cœur embryocardique ; la langue est sèche, rôtie, ataxique, selles et urines involontaires. Le malade ne répond pas aux questions posées et semble dans le coma. Température, 40°2. L'éruption, extrêmement abondante, est nettement pétéchiale.

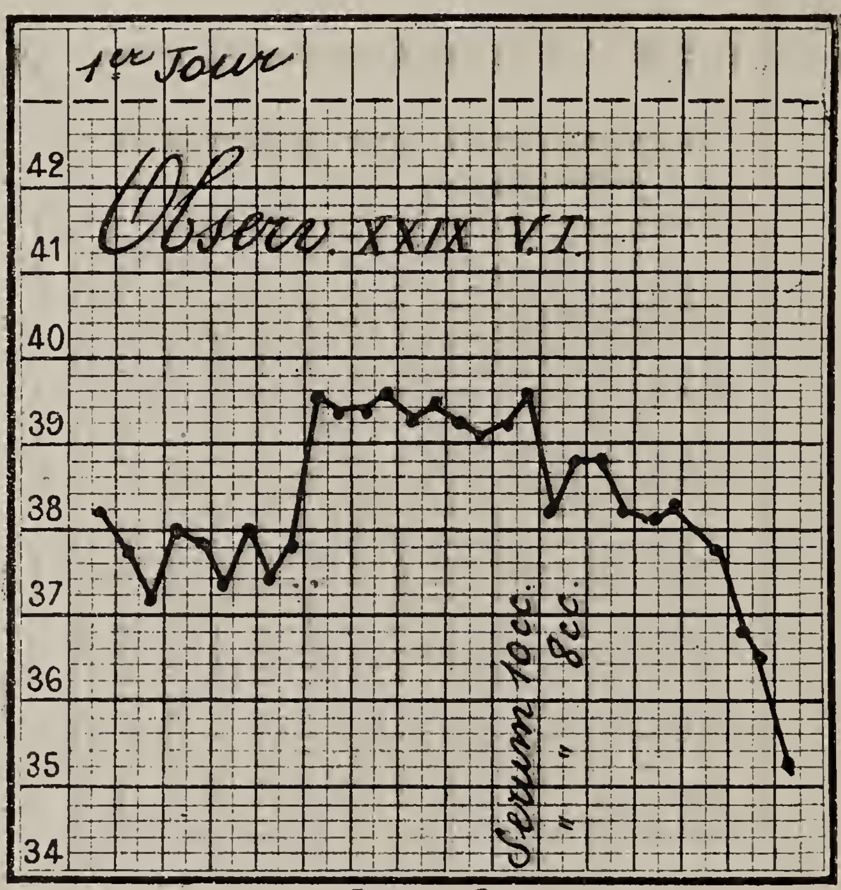
On pratique, le 30 mars, une première injection de 10 cent. cubes de sérum d'âne.

Le lendemain, chute de la température de près de 2° : 38°6; l'état général est sensiblement amélioré; le malade a repris connaissance ; il a un peu dormi la nuit et se sent mieux. Le pouls et le cœur sont meilleurs. La tem-

pérature se relève le soir (40°). 2e injection de 8 cent. cubes le 31 au soir, sans modifications appréciables; 3e injection de 5 cent. cubes le 1er avril. Le lendemain, nouvelle chute de la température (38°8) avec amélioration considérable de l'état général.

Il n'est plus fait de nouvelle injection et le malade entre en convalescence; défervescence au 10e jour. Pas de complications. (*Courbe 41.*)

Observation XXIX. — V... I..., trente-trois ans, soldat serbe. Non vacciné contre la fièvre typhoïde. Entre à l'hôpital le 28 mars, au 7e jour d'un typhus d'allures graves, avec symptômes généraux très accusés et éruption extrêmement abondante.



Courbe 42.

Séro-diagnostic négatif; hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire négative.

Le 31 mars (10e jour de la maladie), l'état du malade semble désespéré; il est dans un semi-coma et ne répond pas aux questions posées. La température, en plateau depuis cinq jours sans oscillations, s'élève peu à peu. La langue est sèche, rôtie, ataxique. Le pouls est petit, rapide, à 130. Dyspnée intense : 40. L'éruption est franchement pétéchiale.

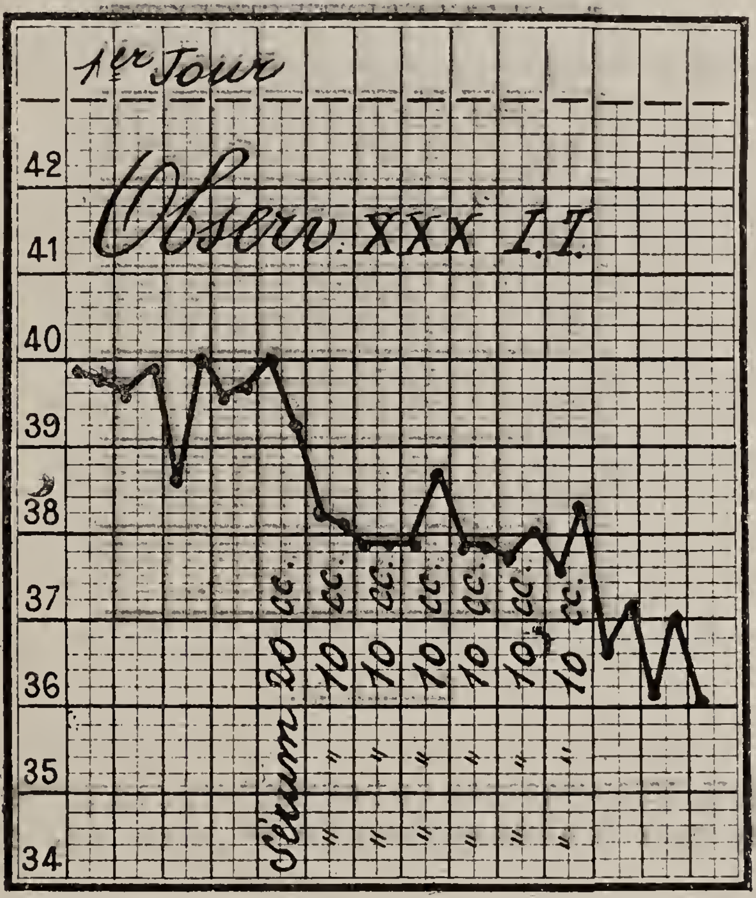
On pratique, le 31 mars au soir, une injection de 10 cent. cubes de sérum d'âne. Le lendemain, chute brusque de la température : 38°2. L'état général est considérablement amélioré. La température se relève un peu le soir (38°8).

2e injection de 8 cent. cubes le 1er avril au soir. A partir de ce moment, la défervescence se poursuit régulièrement et le malade entre en convalescence (défervescence au 11e jour). Pas de complications. (*Courbe 42.*)

Observation XXX. — L... T..., vingt-cinq ans, soldat serbe. Vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Cet homme, en traitement à l'hôpital depuis le 13 mars 1916 pour blessure légère, est pris brusquement, le 2 avril, de fièvre avec céphalée, constipation, insomnie. Apparition les jours suivants d'un exanthème généralisé, très abondant avec injection conjonctivale. L'état typhique est très prononcé. La température, après un crochet le 3e jour, est en ascension continue, sans oscillations et atteint 40° le 6 avril. Le pouls est mauvais, très rapide. Les bruits du cœur sont assourdis, les urines sont rares.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.



Courbe 43.

On pratique le 6 avril (5e jour de la maladie) une première injection de 20 cent. cubes de sérum (sérum de cheval), qui est suivie d'une chute brusque de la température, de 40° à 38°2, avec amélioration considérable de l'état général.

La température se maintenant aux environs de 38°, on poursuit les injections de sérum à la dose quotidienne de 10 cent. cubes jusqu'au 10 avril, date à laquelle le malade entre définitivement en convalescence (11e jour de la maladie). Pas de complications. (*Courbe 43.*)

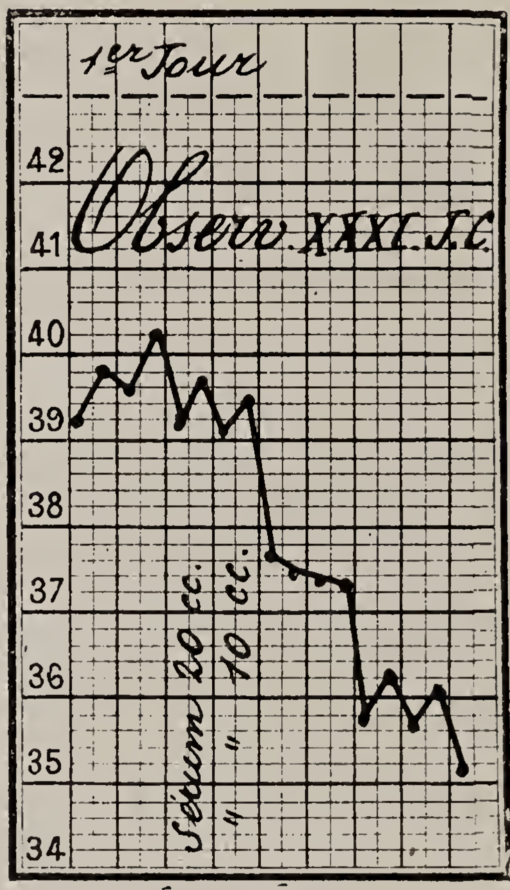
Observation XXXI. — Y... C..., vingt-quatre ans, soldat serbe. Non vacciné contre la fièvre typhoïde. A été porteur de poux.

Cet homme est atteint depuis le 7 avril d'un typhus sévère avec état typhique assez prononcé et exanthème discret sur le tronc; léger énanthème buccal; constipation; injection conjonctivale; fièvre continue au-dessus de 39°.

On pratique, le 9 avril, au troisième jour de la maladie, une 1re injection de 20 cent. cubes de sérum (sérum de cheval); 2e injection de 10 cent. cubes le 10 avril.

Hémoculture, rien ne pousse; recherche du spirille et de l'hématozoaire, négative.

Le lendemain, chute brusque de la température qui tombe à 37°7, avec amélioration considérable de tous les symptômes. Il n'est plus fait de nou-



COURBE 44.

velles injections; la défervescence se poursuit les jours suivants et le malade entre en convalescence (défervescence au 5e jour). Pas de complications. (*Courbe 44.*)

E. — **Observations du Dr H. Poirson, médecin de l'Hôpital de Medjez-el-Bab** (Seconde série de cas).

OBSERVATION VI (Typhus exanthématique de gravité moyenne). — Aziza-bent-Attab-ben-Ammar, sept ans. *Mère morte il y a 19 jours du typhus exanthématique.* (Cette femme est décédée en arrivant à l'hôpital; je n'ai même pas eu le temps de lui faire une injection de sérum; elle était au 12e jour de sa maladie.)

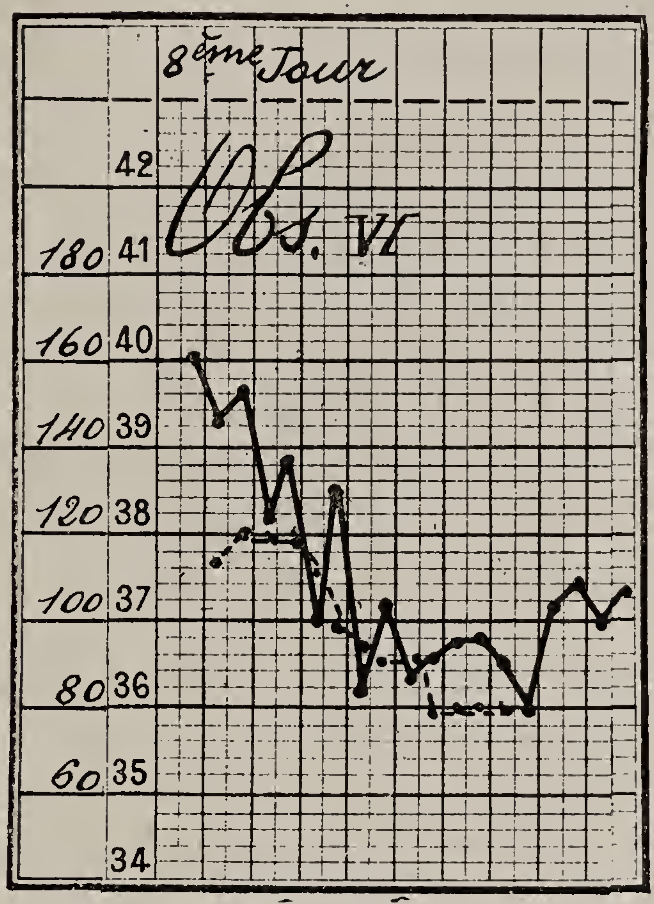
Malade depuis 8 jours; a commencé par présenter céphalée, diarrhée, fièvre continuelle.

La langue est humide, blanchâtre. Éruption caractéristique sur la poitrine, le tiers supérieur des bras aux faces antérieure et externe. Lucidité complète; pas d'abattement. Pas de congestion du foie; rate un peu douloureuse à la pression. Injection conjonctivale assez prononcée dans les angles internes. Signes de la ventouse et de la langue positifs. Le pouls, à 114, est régulier, ample, égal. La malade boit très volontiers. Le pronostic, au 9e jour de la maladie, est bon. Injection de 10 cent. cubes de sérum anti-

exanthématique. Dès le 9e jour, la malade fait sa défervescence d'une façon très régulière.

Après l'injection, il n'y eut ni réaction locale, ni générale. (*Courbe 45.*)

Il est permis de dire que, dans ce cas, le sérum a écourté la durée de la maladie.



Courbe 45.

Observation VII (Typhus exanthématique, forme adynamique). — Attab-ben-Ammar, quarante ans, ouvrier agricole, père de la malade de l'observation VI. Malade depuis 8 jours. Début de la maladie par céphalée, fièvre, constipation, filets de sang dans l'expectoration.

20 avril. — Langue blanche, sèche, couverte de fuliginosités à la pointe et sur les bords. Signe de la langue positif. Injection conjonctivale très prononcée dans les angles internes. Éruption peu abondante sur la poitrine et les faces antérieures des bras. Signe de la ventouse positif. Torpeur très prononcée. Pouls régulier, mais très faible.

Première injection de 10 cent. cubes de sérum; 5 cent. cubes huile camphrée.

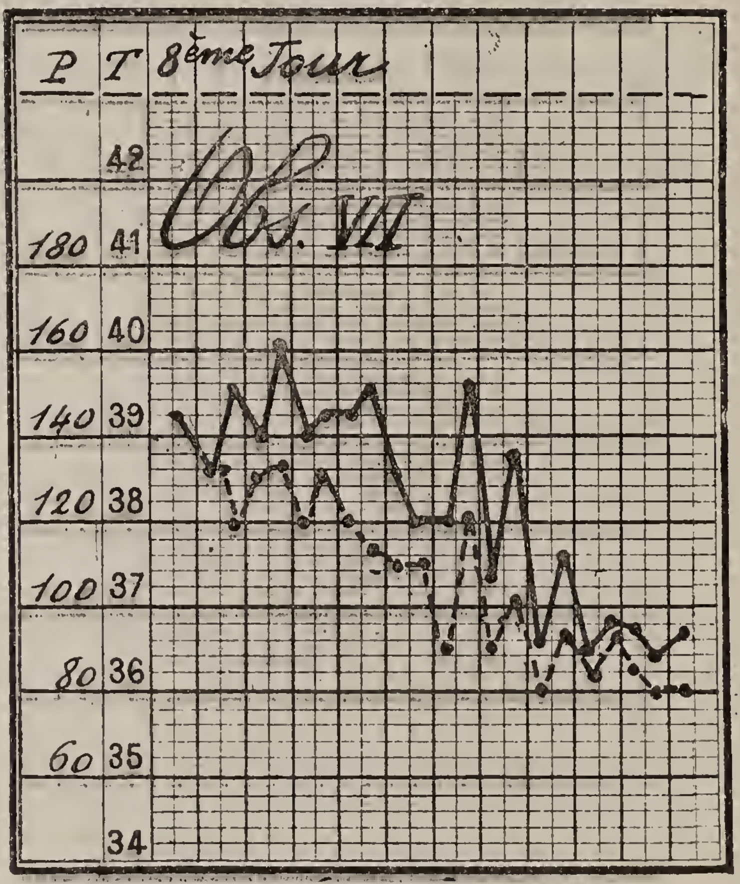
21. — Pouls toujours faible. Langue très sèche. L'abattement est moins prononcé, le malade déglutit lentement les boissons avec toute connaissance. Deuxième injection : 20 cent. cubes de sérum; 10 cent. cubes huile camphrée. Un lavage d'intestin.

22. — Le pouls est franchement meilleur que la veille, facilement perceptible, à 120 au lieu de 130. Le malade est plus éveillé, il suit ce qui se passe autour de lui. Langue sèche, mais rouge.

23. — Le pouls diminue toujours de fréquence; mais, si la température reste stationnaire, le pronostic devient cependant meilleur; la langue commence à se nettoyer; le malade se lave lui-même la bouche, répond très bien aux questions, demande quand il sera guéri; les urines sont claires,

abondantes. Le pouls est régulier, égal. Nous sommes au 12e jour de la maladie; on sent très bien qu'il y a une défervescence dans l'état général.

24. — La chute de la fièvre commence; celle-ci se relève le 25 après une purgation pour tomber en lysis. (*Courbe 46.*)



Courbe 46.

Dans cette observation, le sérum agit d'abord sur le pouls (22 avril), puis sur l'état général (23), il semble y avoir une désintoxication partielle qui libère le système nerveux et qui se parfait le 24 avril et les jours suivants.

LA TEMPÉRATURE OPTIMALE D'UNE DIASTASE EST-ELLE INDÉPENDANTE DE LA CONCENTRATION DU MILIEU EN SUBSTRAT ET EN FERMENT ?

par ARTHUR COMPTON.

(Imperial Cancer Research Fund, Londres.)

Dans un récent mémoire (1) nous avons montré que la température optimale de l'activité d'une *salicinase* d'amandes douces donnée (2) était indépendante de la concentration du milieu en substrat d'une part, en diastase d'autre part, *pourvu que l'action fermentaire se soit exercée dans tous les cas pendant le même temps* (3). Sommes-nous là en face d'un cas particulier, ou nous trouvons-nous en présence d'un phénomène général dans le domaine diastasique?

Telle est la question que nous nous sommes posée et que nous avons pensé résoudre en nous adressant à d'autres diastases.

En étudiant la *maltase* de l'*Aspergillus orizæ* (takadiastase) nous avons vu qu'elle se comportait aussi à cet égard comme la *salicinase*. Ce sont ces expériences que nous allons décrire dans la note actuelle.

Notre maltose était du maltose (de Kahlbaum) purifié par

(1) Arthur Compton, *Proc. Roy. Soc.*, B. 87, 1914, p. 245; *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVIII, 1914, p. 866.

(2) Pour la variation, d'une préparation à l'autre, de la température optimale de la *salicinase* d'amandes douces, voir Arthur Compton, *Annales de l'Institut Pasteur*, t, XXVIII, 1914, p. 878.

(3) Pour la variation de la température optimale d'une diastase suivant la durée de l'action diastasique, voir Gabriel Bertrand et Arthur Compton, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, 1911, p. 1518; *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, 1912, p. 161.

traitement au noir animal et recristallisations répétées dans l'eau redistillée, suivant la méthode usitée dans son laboratoire par Gabriel Bertrand. Les cristaux obtenus étaient débarrassés de l'eau mère par passage à la presse hydraulique entre plusieurs couches de toile de lin sèche et propre ne contenant ni matière minérale ni amidon. La masse, blanche et dure au sortir de la presse, était pulvérisée, puis desséchée dans le vide sulfurique pendant une semaine. On obtient ainsi du maltose très pur contenant une molécule d'eau de cristallisation $C^{12}H^{22}O^{11}+H^2O$, dont le pouvoir rotatoire était $[\alpha]_D^{20}=+130°,4$ et dont le pouvoir réducteur (rapporté au maltose anhydre) correspondait exactement à la valeur indiquée par Gabriel Bertrand (1).

*
* *

1° *La température optimale est indépendante de la concentration en substrat.* Ce fait résulte de l'expérience suivante : On prépare la solution diastasique en faisant macérer pendant une demi-heure à la température ordinaire la poudre diastasique dans l'eau pure à raison de 10 milligrammes par centimètre cube.

Dans quatre séries de huit tubes à essai en verre d'Iéna, soigneusement lavés et desséchés, on introduit respectivement 360, 180, 90 et 60 milligrammes de maltose hydraté dissous dans 4 cent. cubes d'eau, et 1 cent. cube de la solution diastasique précédente. La concentration en maltose se trouve être ainsi de M/5, M/10, M/20 et M/90 respectivement.

Les tubes bouchés au liège avaient été au préalable répartis dans huit étuves convenablement réglées. Après seize heures d'action on retire les tubes, on arrête l'action diastasique par chauffage à 100 degrés, on refroidit et on dilue le contenu avec de l'eau distillée jusqu'à correspondre initialement à 36 milligrammes de maltose pour 20 cent. cubes. On titre alors suivant la méthode de Gabriel Bertrand (2) le pouvoir réducteur sur 20 cent. cubes.

(1) *Bull. Soc. Chim.*, 3e série, t. XXXV, p. 1285, 1906.
(2) *Loc. cit.*

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau I.

Tableau I.

TEMPÉRATURES EXTRÊMES de chaque expérience	MALTOSE HYDROLYSÉ P. 100 avec les concentrations moléculaires en substrat suivantes :			
	M/5	M/10	M/20	M/30
17°,0	1,9	—	—	24,0
17,2 - 17,0	—	5,9		
25,0	—	14,2		
25,3 - 25,5	8,6	—	—	45,0
27,0	—	—	32,8	
34,3 - 34,4	—	31,2		
34,5	18,3	—	—	65,2
35,0 - 35,1	—	—	50,9	
41,0	—	—	70,0	
42,4	28,2	—	—	78,5
42,5 - 42,4	—	45,0		
47,0	37,5	55,6	80,3	87,3
49,5 - 49,6	—	52,5	—	
49,5 - 50,0	34,3	—	—	83,8
50,0	—	—	73,4	
51,5 - 52,0	—	—	61,9	
52,2	31,2	—	—	60,3
52,2 - 52,4	—	39,1		
53,3 - 53,2	—	—	46,4	
54,5 - 55,2	—	19,7		
55,5 - 56,4	22,5	—	—	40,6

En portant en abscisses la température, en ordonnées le maltose hydrolysé, ces chiffres nous permettent de tracer les courbes de la figure 1 (voir page 500).

Un simple examen de cette figure montre que la température optimale est nettement la même, + 47 degrés, pour toutes les

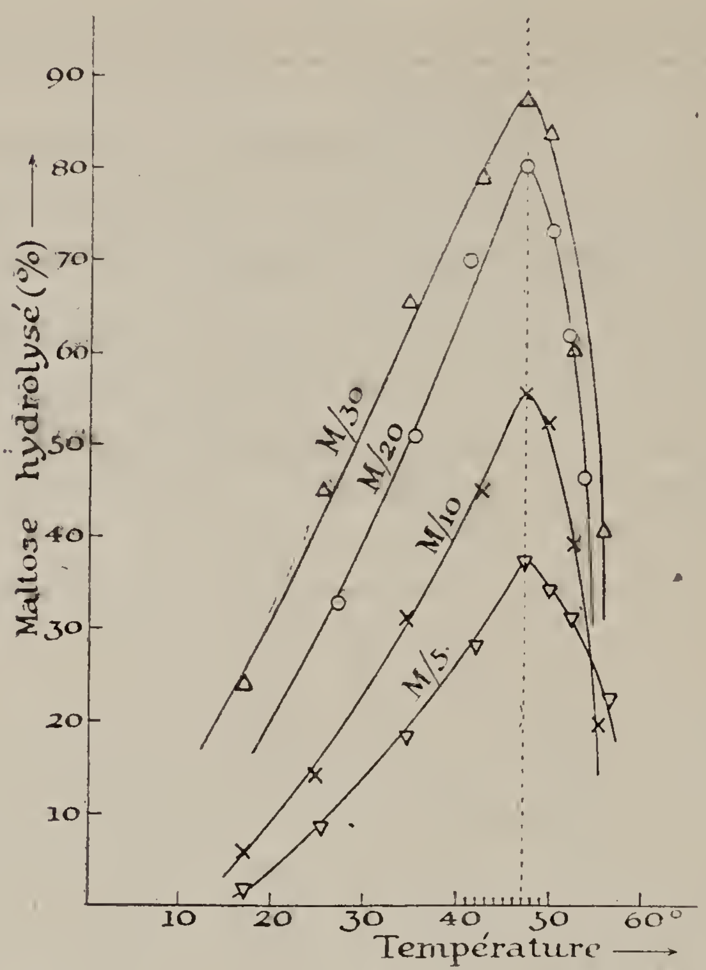


Fig. 1. {Concentrations en substrat M/5 à M/30. Concentration en diastase 2×10^{-4} gr/cm³}

courbes. Elle est donc indépendante de la concentration du substrat.

2° *La température optimale est indépendante de la concentration en diastase.* Ce fait résulte des expériences suivantes. Des tubes à essai contenant 90 milligrammes de maltose dissous dans 4 cent. cubes d'eau sont additionnés d'un centimètre cube de solution diastasique renfermant suivant la série : 1, 3, 6 ou 10 milligrammes de poudre de diastase par centimètre cube. On a ainsi dans les tubes une concentration en substrat de M/20 et une concentration en diastase variant de 2×10^{-4} à 20×10^{-4} gr. par cent. cube.

De même que précédemment, on arrête l'action au bout de 16 heures et l'on procède au dosage.

Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau II.

Tableau II.

TEMPÉRATURES EXTRÊMES de chaque expérience	MALTOSE HYDROLYSÉ P. 100 avec les concentrations diastasiques gr./cm³ suivantes :			
	2×10^{-4}	6×10^{-4}	12×10^{-4}	20×10^{-4}
17°,3-17°,5	—	—	7,2	
23,0	—	7,2		
27,0	—	—	—	32,8
27,3 - 27,5	7,2	—	25,4	
27,8 - 27,9	—	12,8		
34,3	—	—	32,8	
34,5 - 34,4	11,4			
34,5 - 34,6	—	21,1		
35,0 - 35,1	—	—	—	50,9
41,0	—	—	—	70,0
41,8	—	28,2		
42,4 - 42,5	16,9	—	57,1	
47,0	21,1	32,8	63,5	80,3
49,7 - 49,6	—	28,2		
49,8 - 49,9	—	—	54,1	
49,7 - 50,0	16,9	—	—	
50,0	—	—	—	73,4
51,5 - 52,0	—	—	—	61,9
52,0	—	21,1		
52,3 - 52,4	12,8			
53,3 - 53,2	—	—	—	46,4
54,0	—	15,5		
55,2 - 55,0	4,5			
55,2	—	—	16,9	

Ces chiffres permettent de tracer les courbes de la figure 2 (voir page 502).

Nous voyons ici encore que l'optimum de température est

le même, + 47 degrés, pour toutes les courbes du réseau.

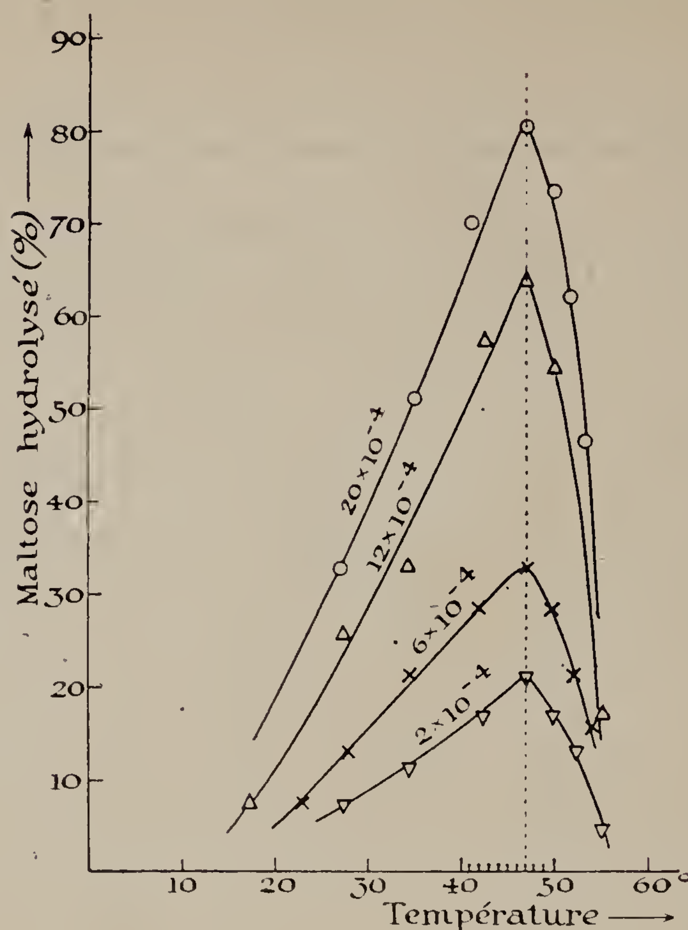


Fig. 2. {Concentration en substrat M/20. Concentrations en diastase 2×10^{-4} à 20×10^{-4} gr/cm³.

Il est donc indépendant de la concentration en diastase.

En résumé, pour la préparation étudiée de *maltase* d'*Aspergillus orizæ* comme pour la *salicinase* d'amandes douces, la température optimale est indépendante de la concentration en substrat et de la concentration en diastase.

Ceci à notre avis présente un intérêt théorique et pratique. Si le fait est général, comme nous sommes disposé à le croire, la température optimale de l'action diastasique prend une signification pratique importante du fait qu'elle est indépendante d'un certain nombre de facteurs. Il est inutile, par exemple, de fixer la concentration du substrat pour définir l'optimum de température du dédoublement diastasique. La concentration du substrat n'intervenant pas, la concentration moléculaire ne joue aucun rôle dans l'optimum; il en résulte qu'on n'a pas à se préoccuper à cet égard du poids moléculaire du substrat, grandeur qui nous est souvent inconnue, comme dans le cas du glycogène, de l'amidon, des matières protéiques.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Octobre. — N° 10.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : **18** francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : **20** francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 10

30e ANNÉE OCTOBRE 1916 N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LA COQUELUCHE (1)

par les docteurs

Mme INGEBORG CHIEVITZ et ADOLPH H. MEYER

Assistante à l'Institut sérothérapique de l'État (Copenhague).

Directeur de la 3e Polyclinique de l'hôpital d'enfants Reine-Louise (« Dronning Louises Bornehospital »).

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'État (directeur : le Dr Thorvald Madsen) et de la Clinique privée d'enfants du Dr Adolph H. Meyer, Copenhague.]

L'an dernier, nous avons publié, dans le journal danois *Hospitalstidende* (2), les recherches que nous avions faites à l'Institut sérothérapique de l'État, pour reconnaître si le microbe Bordet-Gengou était vraiment le microbe de la coqueluche, ainsi que MM. Bordet et Gengou l'avaient déjà soutenu en 1906, affirmation mise en doute plus tard de différents côtés.

Nos expériences portaient surtout sur des malades de la coqueluche qui, dès le mois de décembre 1913, avaient été reçus à la clinique privée, de concert avec la municipalité de Copenhague.

Nos recherches ayant confirmé la découverte de Bordet et Gengou, nous nous sommes considérés comme fondés à conclure que Bordet et Gengou avaient eu raison, en désignant comme bacille de la coqueluche le microbe décrit par eux.

(1) Conférence du Dr Adolph H. Meyer à la Société des médecins de Copenhague, 4 avril 1916.
(2) *Hospitalstidende*, 1915, n° 25.

*
* *

Indépendamment de notre travail, M. Giese, médecin départemental, a publié, en l'automne 1915, sa thèse : *Recherches sur le microbe Bordet et son apparition dans la coqueluche.* Lui aussi a, en général, pu confirmer les résultats obtenus par les savants belges.

A ce que nous savons, l'année passée n'a vu, à l'étranger, la publication d'aucune recherche nouvelle sur notre sujet. Nous allons donc communiquer les résultats obtenus par nous en continuant nos recherches. Nous avons continué notre collaboration sur les mêmes lignes que lors de nos premières recherches, l'un de nous (Meyer) ayant examiné l'expectoration des malades de clinique et entrepris les tentatives de culture pure, l'autre (Chievitz) ayant vérifié les cultures avec de l'immun-sérum et entrepris les tentatives de fixation de l'alexine. De plus, Mme Chievitz a dirigé la station de diagnostic de coqueluche à l'Institut de sérum.

*
* *

Nous commençons par donner un aperçu de la technique employée aux recherches.

Pour obtenir l'expectoration dans un état convenable aux recherches, on rabaisse la langue du malade pendant une quinte en la pressant avec une spatule métallique. Sur la spatule on recueille l'expectoration qui finit la quinte. L'expectoration est reportée dans un tube stérile, et bien délayée, avant l'investigation, dans une solution physiologique stérile de NaCl. On pêche alors un petit flocon, de préférence consistant et visqueux, destiné partie à l'investigation bactériologique, partie aux tentatives de culture.

Il n'est que rarement possible de diagnostiquer la coqueluche en examinant seulement la préparation de crachats rejetés. Nous reviendrons sur ce point.

Il est d'importance de se donner de la peine pour recueillir ce que nous appelons une bonne expectoration, c'est-à-dire une expectoration visqueuse et consistante, d'une consistance

gluante, mucopurulente et, autant que possible, sans mélange de mucus de l'arrière-bouche ou de la bouche, et sans mélange de restes d'aliments projetés.

Quelquefois un vomissement empêche de recueillir l'expectoration, et avec certains malades, il faut user de beaucoup de patience avant de réussir à se procurer une expectoration bien propre à l'investigation. Quelquefois on l'obtient facilement, si le malade a un accès de toux pendant qu'on est là.

Pour montrer l'existence du microbe par la culture, nous avons reporté un petit flocon d'expectoration dans une boîte de Petri, contenant le milieu recommandé par Bordet et Gengou : gélose-pomme de terre-sang. Seulement, au lieu du sang de lapin ou d'homme recommandé par Bordet et Gengou, nous nous sommes servis du sang de cheval stérile. Nous recommandons sans hésitation l'emploi du sang de cheval. On étend le flocon sur la surface de la gélose-sang et, de là, dans une ou deux boîtes de Petri contenant le milieu.

En préparant le milieu, il est d'importance de suivre soigneusement les indications de Bordet et Gengou. Faute de cette précaution, nos recherches restèrent pendant longtemps incertaines. Depuis quelque temps, nous essayons de simplifier la préparation, en nous servant de farine de pommes de terre au lieu de l'extrait de pommes de terre. Cette modification a paru utilisable, quoique le milieu de Bordet soit préférable.

On porte la boîte de Petri à l'étuve en l'examinant au bout de 2, de 3, de 4 jours. Si les microbes Bordet-Gengou ont poussé, ils se manifestent distinctement, au milieu de la pullulation de colonies de microcoques et de bacilles de grandeur différente couvrant la surface de la gélose-sang, comme des colonies polies et, si on y projette de la lumière, fortement luisantes et saillantes. Elles ressemblent tout à fait à des gouttelettes de mercure, quelquefois très nombreuses, quelquefois assez clairsemées. Au bout de 2 jours, on voit déjà assez bien les colonies, surtout en se servant d'une loupe, mais elles sont alors poussiéreuses et légèrement luisantes. Nous, qui depuis 2 ou 3 ans travaillons avec ces bacilles, nous trouvons les colonies très caractéristiques ; en effet, elles nous paraissent tellement caractéristiques que nous sommes à même de reconnaître le microbe à l'apparence des colonies.

La grandeur des colonies varie, dépendant souvent de la qualité du milieu. Généralement, elles atteignent leur maximum au 4e jour, elles ont alors 1 millimètre environ de diamètre, mais dans des cas exceptionnels, elles deviennent encore plus grandes.

Les bacilles d'une telle colonie sont très petits, ovoïdes, Gram négatifs, fortement aérobies. Ils se colorent faiblement, c'est-à-dire en lilas, au bleu de toluidine phéniqué. En quelques cas, mais non dans tous, les pôles paraissent colorés dans une préparation sèche, quoique plus souvent dans une préparation humide. La coloration polaire se perd généralement aux générations suivantes.

D'une colonie des boîtes de Petri, nous avons constamment tiré des cultures striées sur de la gélose-sang inclinée dans un tube à essais. 2 jours après, la culture pousse comme une strie blanche qui, plus tard, s'accroît dans le sens de l'épaisseur, sans cependant se répandre latéralement. Dans une cave glacière à + 3°, de telles cultures restent vivantes pendant 3 mois. A la température ambiante, elles se maintiennent encore plus longtemps si, au moyen de capsules de caoutchouc, on empêche le milieu du tube de se dessécher. A la culture, les microbes varient un peu de grandeur. Dans les vieilles cultures, ils se rapetissent souvent, ressemblant presque à des micrococques. Ils ont tendance à s'agglomérer. En effet, on ne rencontre pas de formes d'involution de microbes Bordet-Gengou cultivés sur la gélose-sang, contrairement à ce qui est le cas pour les microbes de l'influenza.

Partant des cultures pures, nous avons ensemencé sur gélose, sur bouillon, sur sérum et sur gélatine sans qu'il y ait eu de croissance. D'autre part, nous avons obtenu une bonne croissance sur gélose-ascite en employant un fil de platine raide dont on enduisait bien la surface. Pourtant, pour les cultures un peu vieilles, nous avons réussi à les faire pousser sur gélose après un séjour à l'étuve de huit jours. A ce qu'on dit, elles poussent aussi sur d'autres milieux de laboratoire.

Nous avons réussi à obtenir une bonne croissance de bacilles sur le bouillon d'œuf recommandé par Besredka. Ils y forment un dépôt muqueux. De la gélose-sang nous avons souvent reporté les bacilles sur le bouillon au sérum, suivant l'indica-

tion de Bordet-Gengou. Les bacilles y forment un dépôt visible qui est blanc et aggloméré en paquets. Les bacilles d'une telle culture prennent des formes d'involution.

Pour vérifier les bacilles, nous avons examiné le pouvoir agglutinant de chaque culture au moyen d'une immun-sérum de lapin préparé par M[me] Chievitz et qui agglutinait nos cultures jusqu'à 1 : 5.000. La plupart des cultures s'agglutinaient à 1 : 5.000, quelques-unes étaient moins disposées à l'agglutination. En répétant les ensemencements pendant un certain temps, plusieurs des cultures ont perdu, ainsi que Bordet l'a fait remarquer, leur faculté de s'agglutiner. Les premières cultures ont été vérifiées par l'immun-sérum de cheval de Bordet, qui a été assez aimable pour nous en envoyer une petite portion.

M. le professeur Bordet a été assez aimable pour vérifier les premières cultures trouvées par nous. Plus tard, il nous a envoyé une petite bouteille d'immun-sérum de cheval qui agglutinait fortement les microbes et dont nous avons pu nous servir pour la détermination de nos cultures. Malheureusement, cet immun-sérum ne s'est pas conservé longtemps. Nous en avons perdu une partie dans une série de vaines tentatives d'agglutination avec quelques vieilles races de laboratoire que nous avait envoyées l'Institut Pasteur de Bruxelles. Ces cultures avaient perdu leur faculté de s'agglutiner et leur pouvoir agglutinogène, éventualité qu'à ce moment nous n'avions pas clairement prévue et qui nous a fait perdre encore plus de temps, parce que nous avons fait avec ces cultures de nombreuses tentatives infructueuses d'immunisation avec des lapins. Des tentatives d'immunisation postérieures avec nos propres cultures nous ont donné beaucoup de peine, les lapins mourant souvent d'anaphylaxie, lorsque, suivant les indications de Bordet et Gengou, nous employons à l'injection des cultures de bouillon au sérum soit intraveineusement, soit intrapéritonéalement. Nous avons pourtant obtenu un sérum faiblement agglutinant (1/500) au moyen d'injections intrapéritonéales sur un lapin.

Par contre, nous avons mieux réussi en injectant intraveineusement dans des lapins une grande quantité d'émulsions bactériennes (délayage de culture de gélose-sang vieille de quarante-huit heures dans une solution physiologique stérile de NaCl). Nous avons ainsi obtenu un sérum fortement agglutinant et que, depuis, nous avons employé en déterminant nos cultures.

Il est d'une importance toute particulière, dans les tentatives d'agglutination avec le microbe Bordet-Gengou, d'avoir toujours des tubes témoins avec un délayage bactérien dans une solution physiologique stérile de NaCl sans sérum, une suspension de microbes en apparence homogène donnant souvent une agglutination spontanée si elle est laissée en repos, particulièrement à 37°. On fait la lecture après avoir laissé les tubes deux heures au bain-marie à 37° C., avant que les microbes agglutinés se soient précipités si on laisse reposer assez longtemps, tant au bain-marie qu'à la température ordinaire du laboratoire, un précipité se forme aussi dans les tubes

où il n'y a pas d'agglutination, précipité qui, si on l'agite, simule facilement une agglutination. Les immun-sérums ne donnent d'agglutination avec aucun des autres microbes que nous avons essayés (microbes de l'influenza, colibacille, staphylocoques cultivés sur le milieu Bordet-Gengou).

Nous avons fait quelques tentatives de fixation de l'alexine avec des lapins immunisés. La fixation de l'alexine avec des sérums d'animaux s'est trouvée être sans importance pour la vérification des microbes, fait sur lequel il faut insister, quelques auteurs déclarant s'être servis de cette méthode. Ainsi, avec l'immun-sérum de cheval de Bordet donnant la fixation de l'alexine même avec des émulsions du microbe Bordet-Gengou très étendues, nous avons aussi obtenu la fixation de l'alexine avec le microbe de l'influenza du lapin de Kraus, avec le microbe de Pfeiffer et avec un bâtonnet qui souvent souillait nos milieux. On a aussi essayé ces deux derniers microbes sur des sérums de malade positifs, mais le résultat en était absolument négatif. Les sérums de lapin ne sont pas propres à l'étude de la fixation de l'alexine avec le microbe Bordet-Gengou, le sérum de lapin neuf donnant fréquemment un résultat positif.

Il est d'importance, tant dans les tentatives d'agglutination que dans les tentatives de la fixation de l'alexine, de se procurer une émulsion complètement exempte de gélose-sang. Pendant son séjour à Copenhague en 1914, M. le professeur Bordet nous a appris à racler les microbes du support avec un mince bâton en verre lisse et stérile (par exemple, une pipette de Pasteur rougie et refroidie) et de les reporter dans une solution physiologique stérile de NaCl. Nous avons perdu pas mal de temps faute de connaître la méthode bien propre à former une bonne émulsion.

Presque dans chaque cas nous avons fait l'examen bactérioscopique avec l'expectoration ; mais à part un très petit nombre de cas de coqueluche récente chez des poupons, desquels les microbes ont paru presque en culture pure dans l'expectoration, et groupés partie autour des leucocytes, partie au milieu d'eux et partie en bancs de poissons entre des formations réticulées d'épithélium desquamé, conformément à la description de Weil, il n'a pas été possible de faire avec sûreté le diagnostic par la bactérioscopie. Dans la plupart des cas on trouve une telle quantité de microbes différents, et surtout de microbes ressemblant aux microbes de l'influenza, qu'on ne peut faire qu'une supposition, sans avoir de certitude.

Malgré de nombreuses recherches, M. Giese n'a pas réussi non plus à faire servir à un diagnostic sûr l'examen bactérioscopique de l'expectoration des malades de la coqueluche.

En général, on ne pourra donc faire le diagnostic qu'à la culture, c'est-à-dire au bout de deux jours au plus tôt.

*
* *

C'est donc au moyen de l'apparence des colonies, des particularités morphologiques des microbes, de leur mode de croissance sur gélose-sang, de leur rapport à d'autres milieux, de leur colorabilité et de l'agglutination avec des immun-sérums que nous avons déterminé nos cultures. Nous allons maintenant donner le résultat de l'examen d'expectoration bactériologique indiqué aux tableaux I-II.

A la clinique on a recueilli, de la manière décrite ci-dessus, l'expectoration de 156 malades. Comme plusieurs des malades ont été examinés plusieurs fois, il s'agit de 205 examens d'expectorations en tout.

Après une à deux semaines de toux (la toux comptée dès le commencement de la période catarrhale), on a examiné 27 malades. Chez 24, on a

TABLEAU I.

DURÉE DE LA TOUX	NOMBRE de MALADES	BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS	PAS DE BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS
1 à 2 semaines	27	24	17	7	3	2	1
2 à 3 semaines	33	24	10	14	9	5	4
3 à 4 semaines	27	9	5	4	18	9	9
4 à 5 semaines	27 } 69	9	2	1	24	12	12
5 à 6 semaines	12	1	1	0	11	6	5
6 à 7 semaines	6	0	....	....	6	3	3
7 à 8 semaines	5	0	....	....	5	3	2
2 à 3 semaines	11	0	....	....	11	8	3
3 mois	8	0	....	....	8	5	3
(Y compris 3 récidives.)	156	....	....	....	95	53	42

(The brace with 69 groups the rows from 4 à 5 semaines to 3 mois.)

TABLEAU II.

DURÉE DE LA TOUX	NOMBRE de RECHERCHES	BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS	PAS DE BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS
1 à 2 semaines	34	27	19	8	7	5	2
2 à 3 semaines	40	26	12	14	14	8	6
3 à 4 semaines	37	12	5	7	25	14	11
4 à 5 semaines	36 } 94	3	2	1	33	17	16
5 à 6 semaines	18	1	1	. . . .	17	8	9
6 à 7 semaines	13	0	. . . .	. . . .	13	8	5
7 à 8 semaines	7	0	. . . .	. . . .	7	5	2
2 à 3 mois	12	0	. . . .	. . . .	12	9	3
3 mois	8	0	. . . .	. . . .	8	5	3
	205	69	39	30	136	79	57

réussi à isoler le microbe Bordet-Gengou. De ces 24, 17 étaient des cas sans complication, 7 se compliquaient de bronchite. Pour 3 cas, la culture pure n'a pas réussi. Deux étaient sans complications, un cas était compliqué.

Après 2 à 3 semaines de toux, on a examiné 33 malades. On a isolé le microbe chez 24. De ces 24 cas, 10 étaient sans complication, 14 étaient compliqués de bronchite ou de broncho-pneumonie. Chez 9, à savoir 5 cas non compliqués et 4 cas compliqués, la culture n'a pas réussi.

Après 3 à 4 semaines de toux, on a examiné 27 malades. Chez 9, à savoir 5 non compliqués et 4 compliqués, on a isolé le microbe. Chez 18 (9 non compliqués et 9 compliqués) on n'a pas démontré l'existence des microbes à la culture.

Sur 69 malades dont la toux avait duré plus d'un mois, à savoir 27, de 4 à 5 semaines;

12, de 5 à 6 semaines; 6, de 6 à 7 semaines; 5, de 7 à 8 semaines; 19, plus de 2 mois, parmi lesquels il y avait 3 récidives, la culture pure n'a réussi que pour 3 malades qui, à ce qu'on nous disait, avaient toussé de 4 à 5 semaines et pour 1 malade qui avait toussé de 5 à 6 semaines; de ce groupe 37 étaient non compliqués, 32 des cas compliqués.

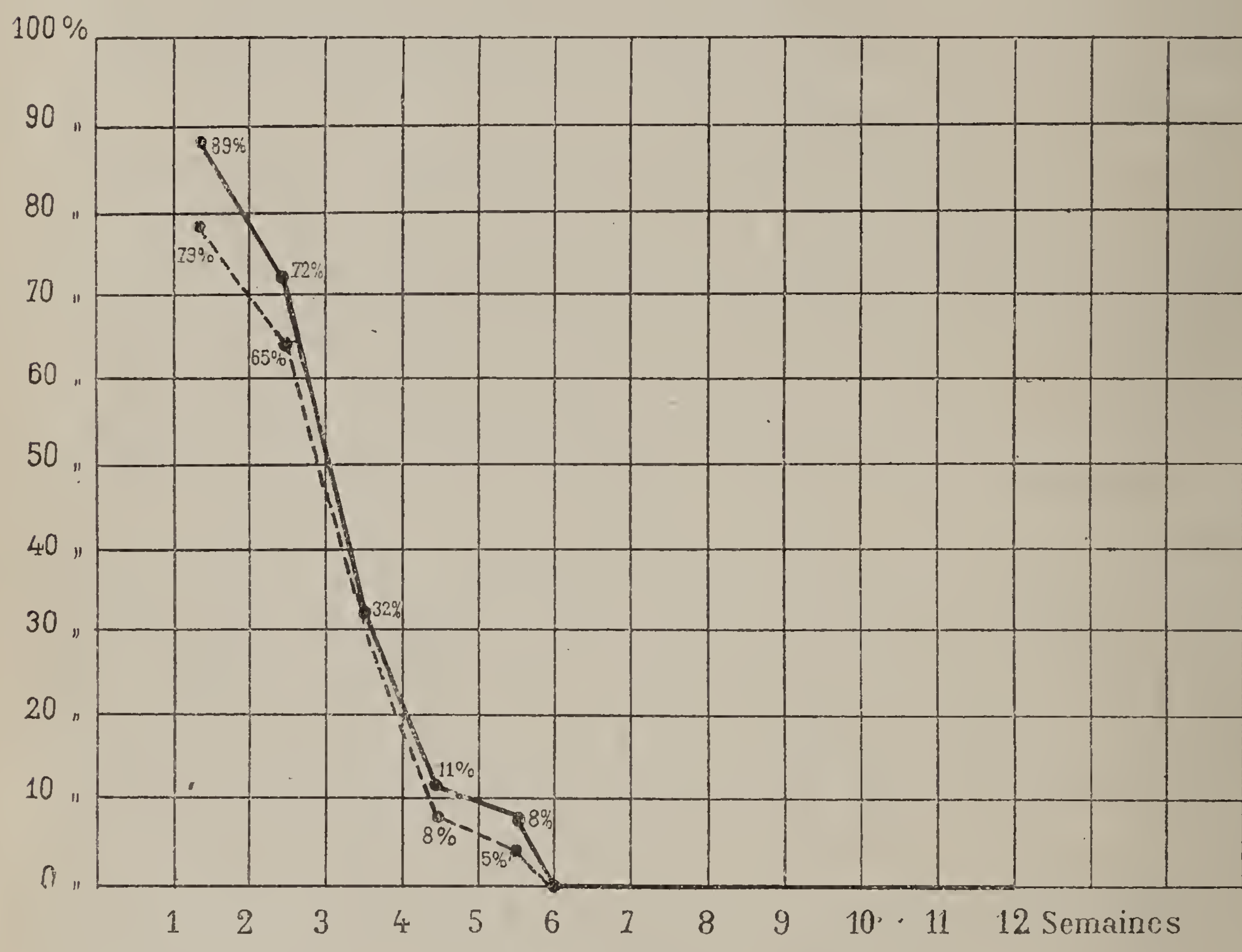
Chez quelques malades qui avaient toussé de 4 à 5 semaines, nous avons cru, malgré une complication de bronchite, avoir pu montrer l'existence du microbe bactérioscopiquement; mais la culture pure n'a pas réussi.

En général, le même malade n'a été soumis qu'à un seul examen; mais quelquefois le même malade a été soumis à deux ou trois ou à plusieurs examens d'expectoration. Cependant, dans ce cas, le résultat a été à peu près le même que pour les examens non répétés. Après que les malades ont toussé de 4 à 5 semaines, les tentatives de culture pure n'ont pu démontrer l'existenee des microbes que chez le seul malade déjà indiqué.

En considérant le nombre total d'essais on verra, ainsi qu'il résulte du tableau II, que nous avons examiné 34 expectorations dans les deux premières semaines de maladie, dont 27 ont donné un résultat positif, 40 expectorations de la deuxième à la troisième semaine de maladie avec un résultat positif de robesmic isolés en 26 cas, 37 expectorations de la troisième à la quatrième semaine de maladie avec 12 résultats positifs de microbes isolés. Nous avons examiné 94 expectorations après plus de 1 mois de toux; les seuls résultats positifs de microbes trouvés furent les 4 cas décrits plus haut.

Il résulte des tableaux que nous avons quelquefois réussi, pour chacun des premiers trois groupes, à démontrer l'existence des microbes en cultivant dans l'expectoration un ou deux jours, avec insuccès le troisième jour. De même, on a pu démontrer l'existence de microbes en cultivant certaines parties d'une expectoration, tandis que d'autres parties n'ont rien donné. Quelquefois, nous avons essayé de conserver l'expectoration pour l'examiner un ou plusieurs jours après, et dans un cas isolé nous avons réussi à obtenir après trois jours la culture pure de microbes d'une expectoration délayée dans une solution physiologique stérile de NaCl. Mais les microbes peuvent

aussi rester vivants dans une expectoration desséchée, jusqu'à trois jours durant. Mme Gouralska, médecin polonais, qui nous a assistés à l'Institut de sérum, a démontré ce fait, ces derniers temps, dans deux cas. C'est un point qui sans doute sera d'une grande importance pratique, vu qu'il prouve la possibilité théorique de la transmission par des objets et des personnes autres que le malade. En général, les microbes paraissent



COURBE I.

assez résistants. Ainsi une émulsion supporte le traitement par 2 p. 100 de phénol pendant 30 minutes. Au contraire, 1/4 p. 1.000 de sublimé est à même d'arrêter très vite la croissance des microbes.

Voici en quelques traits le résultat des recherches d'expectoration à la clinique, ainsi que l'indique la courbe I (la courbe supérieure indique le nombre total de malades, la courbe inférieure, le nombre total des recherches). *Chez les malades qui ont toussé pendant les 1re-2e semaines, c'est-à-dire qui ont eu des quintes caractéristiques pendant 1 semaine tout au plus, nous avons pour ainsi dire toujours pu obtenir les microbes en culti-*

vant. Chez les malades qui ont toussé convulsivement pendant 2 semaines environ, les microbes ont été obtenus dans deux tiers, à peu près, des cas; chez les malades qui sont à la 3ᵉ semaine de la période convulsive dans un tiers, à peu près, des cas. Dans la 4ᵉ semaine de la période convulsive nous n'avons réussi à démontrer l'existence des microbes en cultivant que 3 fois d'entre 36 examens. Plus tard, sur 58 examens, nous n'avons réussi qu'une fois à obtenir une culture pure des microbes de l'expectoration, chez un seul malade qui avait toussé de 5 à 6 semaines, à la 40ᵉ journée de la maladie, et encore nous n'avons trouvé qu'une seule colonie à la boîte de Petri.

Des bronchites et des broncho-pneumonies répandues semblent entraver la culture pure, ce qui n'est pas exprimé aux tableaux, où l'intensité des complications ne se lit pas.

*
* *

Nous avons dit déjà que le premier groupe se compose de 27 malades, parmi lesquels on a démontré l'existence des microbes chez 24. Ce sont des malades qui ont toussé de 1 à 2 semaines. Dans la grande majorité des cas il s'agit de malades qui ont toussé en accès ayant duré de quelques jours jusqu'à une semaine. Pour quelques individus seulement il s'agit de malades aux derniers jours de la période catarrhale. On sait que le plus souvent il est impossible de se procurer l'expectoration du commencement de la période catarrhale. Les enfants toussent suffisamment, mais n'expectorent pas. Les tentatives faites pour obtenir une expectoration en cette période échouent, en général, complètement, et la mucosité qu'on obtient dans ce cas de l'arrière-bouche et du nez ne contient généralement pas de microbes Bordet-Gengou, fait que nous avons vérifié en examinant des malades privés et des échantillons d'expectoration qu'on nous a envoyés du dehors.

Comme il est hors de doute que, dans cette période, les malades sont contagieux, il serait de la dernière importance, dans cette toute première période, de pouvoir démontrer l'existence des microbes, et à cet effet, nous nous sommes, ces derniers temps, servis d'une méthode dont l'idée nous a été

suggérée accidentellement par notre jeune collègue, M. Emil Mauritzen.

Le 11 février, l'un de nous (Meyer) a fait tousser 7 enfants, habitant un asile d'enfants et qui étaient dans la période catarrhale, contre des boîtes de Petri contenant des milieux, chaque enfant contre 1 boîte. La boîte était tenue à 10 centimètres des bouches des malades, et on a fait tousser la plupart des enfants en leur mettant une cuiller sur la langue. Quelques-uns d'entre eux toussaient spontanément. Jusqu'à 5 boîtes sur 7 ont montré des colonies de microbes Bordet-Gengou, poussant mêlées à d'autres colonies. Fait d'un intérêt tout particulier, au 4e jour les colonies étaient plus grandes qu'à l'ordinaire, et par cette raison même, elles ont été sur le point d'échapper à notre attention. Probablement le transport direct des microbes des malades sur le milieu y a joué un rôle. Cependant les microbes étaient caractéristiques et s'agglutinaient avec notre immun-sérum.

Ce procédé, que nous proposons d'appeler *ensemencement par projection de gouttelettes*, est simple et facile ; il ne gêne pas les malades et peut être appliqué par la mère ou par une garde-malade. Nous avons essayé la méthode plus tard avec le résultat que voici : 32 malades ont été examinés à la période catarrhale ; chez 27 d'entre eux, des colonies Bordet-Gengou poussaient sur les boîtes ; chez 5, il n'y avait pas de croissance ; chez 1 de ces 5, la méthode a réussi 12 jours après, lorsque le malade était dans la seconde semaine de la période convulsive ; chez les 4 autres malades l'examen n'a pas été renouvelé.

Chez plusieurs malades qui, en réalité, n'avaient pas la coqueluche, mais, ainsi que l'a prouvé la marche de la maladie, une toux de rhume ordinaire, l'essai fut, comme cela était à présumer, négatif. Chez 5 malades aux 1re et 2e semaines de la période convulsive, l'essai fut positif; chez 2, négatif. Chez quelques malades dans une période avancée de la coqueluche, le résultat fut négatif.

Dans 1 des cas positifs la malade n'avait toussé que 2 jours lorsqu'elle toussa contre le milieu ; dans un autre cas, la toux avait duré 3 jours en tout ; en 2 cas, 4 jours ; en 2 cas, 6 jours ; dans le reste des cas, de 7 à 14 jours. Mais dans aucun des 27 cas positifs le diagnostic n'était sûr quand on a fait l'essai.

En général, les colonies ont moins d'éclat que lorsqu'elles proviennent de l'expectoration et, le plus souvent, elles sont plus grandes, ce qui, nous l'avons dit déjà, est dû probablement à l'ensemencement direct. Le nombre en variait beaucoup, de 2 ou 5 jusqu'à la pullulation. Très souvent, les colonies étaient déjà visibles 2 jours après. Ce fait est extrêmement important au point de vue diagnostique. Des médecins qui, de concert avec nous, se sont servis de la méthode, ont été très contents d'avoir le diagnostic aussi vite.

A notre avis, il est hors de doute que la méthode d'infection par gouttelettes sera importante pour le diagnostic de la coqueluche au commencement de la maladie. Qu'il faille l'essayer aussi dans d'autres maladies contagieuses qui, à ce qu'on pense, se gagnent par une infection par gouttelettes (par exemple, la rougeole), c'est ce que nous nous contentons d'indiquer en passant.

*
* *

On sait que, si la maladie a duré un mois environ, le microbe n'apparaît pas aux tentatives de culture pure. Ce fait signifie-t-il que le microbe ait disparu et que, par conséquent, la maladie ne soit plus contagieuse? Cette question très importante, nous l'avons traitée brièvement dans notre mémoire précédent.

Nous avons été de plus en plus confirmés dans notre supposition que, règle générale, la coqueluche n'est contagieuse que de 4 à 5 semaines. D'une part, on a fait sortir de la clinique des malades, les renvoyant chez eux et aussi à des asiles d'enfants, après que la période convulsive avait duré environ 4 semaines, sans qu'ils y aient propagé la maladie, tout en ayant encore de fortes quintes accompagnées de vomissements. D'autre part, cette année, 33 malades qu'on a reçus à la clinique pour y constater s'ils avaient la coqueluche, et qui ne l'avaient pas, y ont été mêlés à des malades ayant une vieille coqueluche, sans qu'un seul cas de contagion s'y soit produit. Et nous avons déjà vu que des malades, reçus comme suspects de coqueluche ou gardant des restes superposés de la maladie sans l'avoir, ont pu séjourner 1 à 2 mois parmi des

malades ayant une vieille coqueluche sans être atteints. En effet, ce n'est que lorsqu'on a reçu un malade de la coqueluche avec une coqueluche récente et à son début, c'est-à-dire à la période catarrhale ou au commencement de la période convulsive, qu'ils ont été atteints. Nous avons publié des cas de ce genre en 1915.

Tout médecin qui connaît l'état des choses dans un hôpital d'enfants sait combien il y a peu de danger que des enfants reçus avec une broncho-pneumonie dans une période avancée de leur coqueluche, qui ne se démasque qu'après la cessation de la pneumonie, propagent la maladie.

Quant à la question pratique très importante des porteurs des microbes, il n'est pas facile d'y répondre. Jusqu'à présent, nous n'avons pu, en examinant la mucosité de la bouche et de l'arrière-bouche, démontrer l'existence du microbe par la culture chez les gardes-malades de l'hôpital, et dans les cas de catarrhes légers des voies aériennes que nous avons examinés, 45 en tout, nous n'avons jamais pu démontrer l'existence du microbe Bordet-Gengou.

Il n'est pas douteux que, dans des cas rares, les malades pourront être porteurs de microbes au delà de 5 semaines. Pourtant, jusqu'à présent, nous n'avons rencontré qu'un seul cas et, au bout du 40e jour de la maladie, nous n'avons plus trouvé de microbes chez ce malade malgré des recherches répétées. La méthode d'ensemencement par gouttelettes pourra aussi servir à l'éclaircissement de ce point, et nous ferons plus tard des essais à cet effet.

Nous prévoyons une objection : le fait que les microbes ne se laissent cultiver qu'exceptionnellement après 5 semaines de toux ne prouve pas qu'il n'y en ait plus. En effet, il se pourrait que le nombre en soit tellement restreint que la culture en soit difficile, ou bien que la croissance d'autres microbes les cache, en d'autres mots que la méthode soit trop grossière. On pourrait aussi — et à bon droit peut-être — soutenir que notre matériel est encore trop petit. C'est aux expériences de donner la réponse. Nous avons déjà dit que, jusqu'à présent, la pratique semble correspondre à la théorie, et jusqu'à nouvel ordre nous considérons comme fondée l'opinion que, généralement, la coqueluche ne reste infectieuse que 5 semaines. Ainsi, quand la

période convulsive a duré un mois, nous n'hésiterons pas à permettre aux enfants d'aller en classe, d'être conduits aux crèches et aux salles d'asile, si deux examens d'expectoration ne donnent pas de résultat positif de microbes trouvés (1).

Toute cette question joue un grand rôle pratique, et en parcourant la littérature à ce sujet on trouve des opinions très divergentes. Il n'est pas rare que des auteurs considèrent la coqueluche comme contagieuse tant que durent les quintes. D'autres, au contraire, pensent qu'à la période convulsive les malades ne propagent pas la maladie.

Les recherches d'expectoration entreprises par nous sont, à notre avis, très importantes, mais nous considérons comme naturel de l'approfondir par la continuation de nos recherches.

On pourra se servir des tentatives de culture par la méthode d'ensemencement par gouttelettes pour éclaircir ce point.

* * *

Nous allons maintenant traiter cette question : Jusqu'à quel point peut-on diagnostiquer la coqueluche par des essais sur le sang?

Touchant l'agglutination de microbes coquelucheux avec du sérum de malade ou de convalescent, Bordet et Gengou étaient assez réservés. Une agglutination, peu considérable, pouvait avoir lieu, mais manquait souvent. Par la suite d'autres chercheurs, cependant, ont trouvé assez souvent une agglutination faible. Giese aussi a eu, quelquefois, de l'agglutination, mais non pas constamment.

Nos recherches nous ont montré que, généralement, l'agglutination ne se produit pas. Dans les cas de coqueluche, la recherche de l'agglutination ne joue donc pas de rôle pratique.

Quant à l'autre méthode de l'examen du sang, la fixation de l'alexine, on sait que Bordet et Gengou insistaient surtout sur

(1) A notre grande satisfaction le Ministère de l'Instruction publique, dans son décret du 15 mars 1916 concernant les écoles et maladies contagieuses, a suivi notre procédé pour la coqueluche par suite de nos recherches. Tandis que, autrefois, les enfants étaient retenus chez eux tant que durait la toux caractéristique de la coqueluche, ils pourront à l'avenir fréquenter l'école si la période convulsive a duré quatre semaines.

ce qu'une émulsion de leurs microbes comme antigène provoquait la fixation de l'alexine dans un système hémolytique avec un sérum du sang de malades et de convalescents de la coqueluche. Ceci, qui était important tant pour l'étiologiste que pour le diagnostic, fut contesté plus tard par certains investigateurs, entre autres par des savants de l'Institut sérothérapique de Vienne, et de l'Institut Rockefeller, de New-York. C'était, entre autres choses, pour examiner ce qui en était que nous avons autrefois entrepris notre travail.

Dans notre premier mémoire, nous avons dit que, par une émulsion d'une densité assez grande, correspondant à 2.000 millions de microbes environ par cent. cube, nous avons obtenu un résultat positif chez 22 malades sur 23, examinés de la fin du premier mois de la maladie jusqu'à 3 mois, à peu près, après le commencement de la maladie. De 102 essais témoins tous étaient négatifs, à part 1 qui provenait d'une femme âgée de vingt-neuf ans, qui avait eu la coqueluche dans son enfance.

L'antigène a été fraichement préparé pour chaque jour d'essai d'une culture de gélose-sang vieille de quarante-huit heures. Cette émulsion, dont la densité, nous venons de le dire, correspondait à 2.000 millions, à peu près, de microbes par cent. cube, était employée dans des mélanges différents : 8 volumes d'émulsion + 2 volumes de solution physiologique stérile de NaCl, 4 volumes d'émulsion + 6 volumes de solution salée, 2 volumes d'émulsion + 8 volumes de solution salée, 1 volume d'émulsion + 9 volumes de solution salée, 1 part d'émulsion + 19 parts de solution salée. De ces solutions étendues on a toujours employé 1 cent. cube dans l'essai. La technique des tentatives de fixation de l'alexine a, du reste, été celle dont on se sert généralement à l'Institut sérothérapique.

Le système hémolytique consiste en globules de sang de mouton, en substances sensibilisatrices de sang de mouton préparées sur lapin et, comme alexine, en sérum frais de cobaye, toujours dans un mélange de 1 partie d'alexine + 9 parties d'eau. Les doses employées sont, pour le sang de mouton, 0,5 cent. cube d'une solution à 5 p. 100 de globules dans une solution physiologique stérile de NaCl, à laquelle on ajoute 0, 5 cent. cube d'une solution de substance sensibilisatrice, contenant 2 à 3 unités. Comme la force de l'alexine varie dans les sérums des différents cobayes il faut déterminer par des essais préliminaires le minimum d'alexine nécessaire pour obtenir l'hémolyse totale. L'addition d'antigène au système hémolytique affaiblit l'hémolyse, de sorte qu'une quantité plus grande d'alexine est nécessaire pour obtenir l'hémolyse totale. Cette quantité d'alexine se détermine aussi par un essai préliminaire avec le système hémolytique antigène. En général, avec notre antigène la différence entre les deux valeurs de la quantité d'alexine est petite. Ainsi, si dans le système hémolytique seul on emploie 0,2 cent. cube de solution d'alexine, il faut en employer 0,25 cent. cube en

ajoutant de l'antigène. La dernière valeur de l'alexine qu'on a trouvée s'utilise dans l'essai principal, qui se fait toujours avec du sérum de malade inactivé, à des doses de 0,1, 0,05 et 0,02 cent. cube. Ayant fait, au moyen d'une pipette, le mélange des différentes quantités de sérum de malade, d'antigène et d'alexine, on le laisse 3/4 d'heure à la température ordinaire du laboratoire, puis on le porte au bain-marie, où il est laissé 3/4 d'heure à 37°. Pendant ce temps, l'antigène, réuni aux anticorps, s'il y en a dans le sérum, exercera son pouvoir de fixer l'alexine, de sorte que, dans les cas positifs, après qu'on aura ajouté du sang de mouton + la substance sensibilisatrice, l'hémolyse sera faible ou nulle après deux heures de repos au bain-marie à 37°.

Comme, le plus souvent, il s'agit, dans les cas de la coqueluche, de réactions assez faibles, qui pourront disparaître en ajoutant l'alexine en excès, nous considérons que les essais préliminaires que nous venons de décrire, et dans lesquels on trouve la valeur la plus basse de la quantité d'alexine nécessaire pour donner l'hémolyse totale, sont importants. Comme il arrive de temps en temps qu'un sérum de malade opère spontanément la fixation de l'alexine il faut faire un essai témoin pour chaque essai au sérum. On ajoute au système hémolytique la plus grande quantité de sérum seul employée + 0,5 cent. cube de solution physiologique stérile de NaCl, mais pas d'antigène. Dans ce tube témoin, l'hémolyse doit être totale ou presque totale pour qu'on puisse tenir compte de l'essai.

Le degré de l'hémolyse s'exprime par des chiffres tels que 100 indique l'hémolyse totale, 0 indique l'absence totale d'hémolyse (fixation de l'alexine), les chiffres intermédiaires indiquant le degré de l'hémolyse. On compte que l'hémolyse de 70 et au-dessus n'a pas donné de réaction.

En essayant les mélanges d'antigène indiqués plus haut on a vu qu'avec le mélange 1 + 19, on n'a jamais de résultat positif. De 7 sérums qui étaient positifs avec le mélange 2 + 8 et au-dessus, le résultat avec 1 + 9 était positif dans 1 cas, faiblement positif (60) dans 1 cas et négatif dans tous les autres cas.

Pour commencer, on a employé la même souche dans tous les cas. Plus tard, nous avons employé différentes cultures entièrement fraîches et dont l'action était quelquefois un peu plus forte. Mais dans tous les cas il faut se servir d'une émulsion dense.

Nous avons plus tard continué les tentatives de fixation de l'alexine et, en tout, nous avons fait 153 tentatives de fixation de l'alexine chez 112 malades.

Le résultat en est résumé dans les tableaux III et IV, le tableau III montrant le nombre de malades traités au premier essai, le tableau IV le nombre total de recherches faites, quelques-uns des malades ayant été examinés à plusieurs reprises.

Chez 6 malades seulement sur 112, des recherches répétées de 2 ou 3 jusqu'à 7 fois, n'ont pas fait découvrir dans le sérum d'anticorps fixant l'alexine; cependant l'un des 6 n'a été examiné qu'une fois, 3 mois et demi après le commencement de la

36

maladie, donc à un moment où l'expérience montre que la réaction peut avoir disparu.

Tableau III.

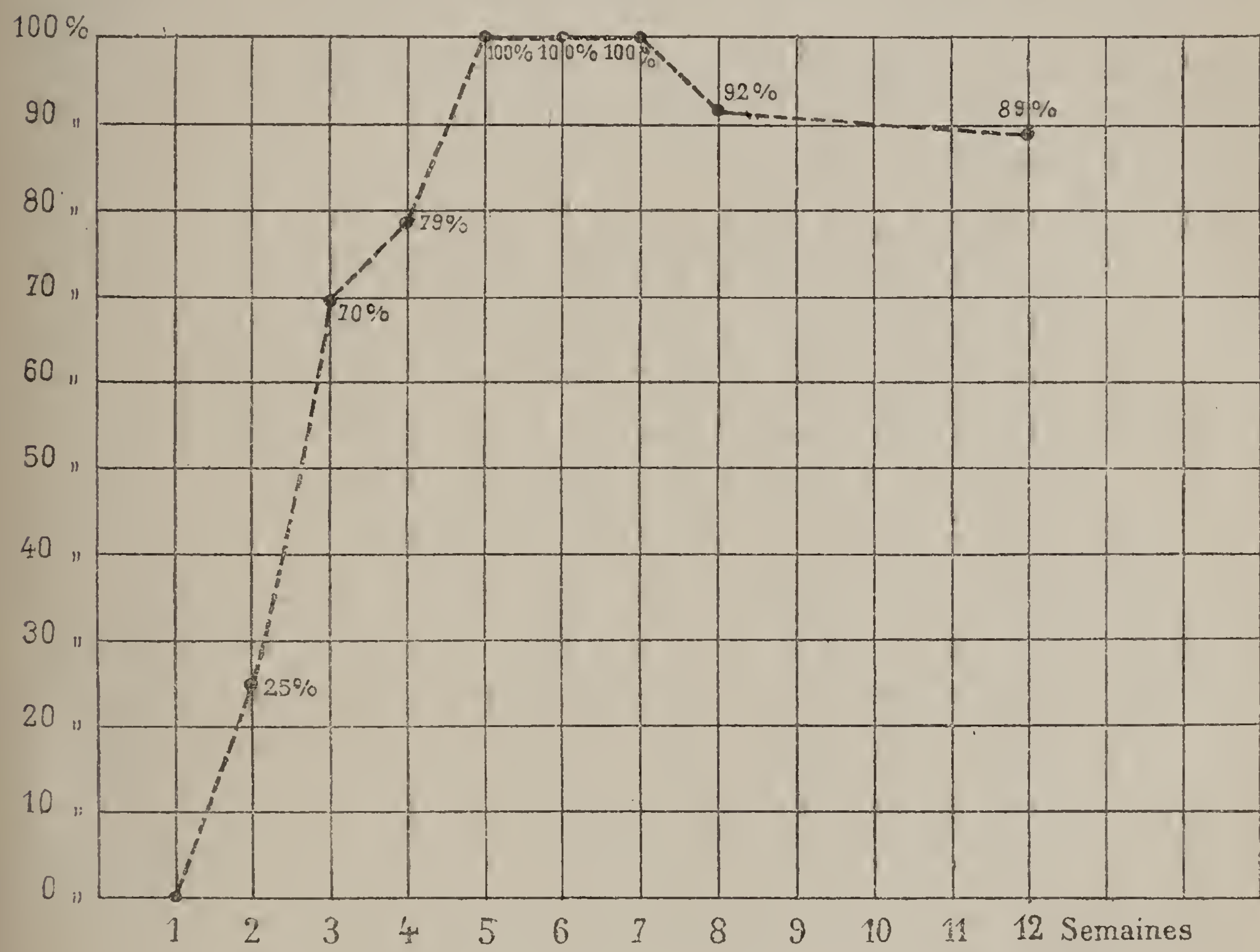
AGE de LA MALADIE	NOMBRE de MALADES	FIXATION de L'ALEXINE	PAS DE FIXATION de L'ALEXINE
1re semaine	3	0	3
2e semaine.	8	2	6
3e semaine.	16	9	7
4e semaine.	29	20	9
5e semaine.	14	14	0
6e semaine.	13	13	0
7e semaine.	7	7	0
2e mois	11	11	0
3e mois	7	6	1
4e mois	1	1	0
5e mois	3	3	0
	112	86	26

Tableau IV.

AGE de LA MALADIE	NOMBRE de RECHERCHES	FIXATION de L'ALEXINE positive	PAS DE FIXATION de L'ALEXINE	LA RÉACTION toujours NÉGATIVE	PAS DE FIXATION DE L'ALEXINE (les six cas qui ne donnaient jamais de réaction non compris).
1re semaine.	3	0	3	. . . .	3
2e semaine.	9	2	7	1	6 (dont 1 réaction répétée).
3e semaine.	23	16	7	. . . .	7
4e semaine.	34	23	11	5	6 (dont 1 réaction répétée).
5e semaine.	22	18	4	4	0
6e semaine.	20	14	6	6	0
7e semaine.	9	7	2	2	0
2e mois . .	17	12	5	4	1 (réaction répétée).
3e mois . .	10	8	2	1	1 (Id.).
4e mois . .	2	1	1	. . . .	1 (Id.).
5e mois . .	4	3	1	. . . .	1 (Id.).
	152	104	49	23	26 (dont 6 réactions répétées).

La courbe II indique la marche de la réaction, c'est-à-dire le pourcentage de réaction positive pour toutes les recherches

de chaque semaine. Les 6 malades qui ne donnaient aucune réaction ont, naturellement, été laissés de côté. On voit qu'en général la réaction n'apparaît qu'à la 3e semaine. Elle peut, cependant, se manifester déjà à la 2e; quelquefois elle est un peu retardée. On la trouve constamment, de la 5e semaine environ jusqu'à quelques mois après le commencement de la maladie. Puis elle disparaît peu à peu. Suivant les recherches



Courbe II.

d'autres investigateurs (Weil, Giese et d'autres), elle pourra se rencontrer plusieurs années après l'apparition de la maladie. Sur ce point, cependant, nous n'avons pas d'expériences indépendantes.

Quant à l'intensité de la réaction, qui est déterminée, nous l'avons dit plus haut, par des chiffres d'hémolyse, elle prédomine aussi de la 5e à la 8e semaine, et la courbe de ses variations suivrait à peu près la courbe précédente.

Dans les cas cités, la réaction a été faite avec du sérum inactivé. En 35 cas elle a été faite en même temps avec du sérum non inactivé. On a vu alors, ainsi que Weil l'a fait

remarquer, qu'elle se manifeste quelquefois au commencement de la maladie quand on l'entreprend avec du sérum non inactivé; de même, elle est plus forte avec du sérum non inactivé à un moment où elle est encore faible avec du sérum inactivé. Dans 2 des cas qui ne donnaient pas de réaction du tout avec du sérum inactivé, nous avons eu l'occasion d'essayer en même temps avec du sérum non inactivé, mais celui-ci ne donnait pas de réaction non plus. Il faut donc entreprendre l'essai avec le sérum non activé quand, dans un but diagnostique, on fait des tentatives de fixation de l'alexine au moment où la maladie est très peu avancée.

Les conclusions que nous avons tirées des tentatives de fixation de l'alexine lors de nos premières recherches en 1915 se sont confirmées. Les voici : *La fixation de l'alexine de sérum d'homme avec le microbe Bordet-Gengou comme antigène rend extrêmement probable que l'individu a ou vient d'avoir la coqueluche. L'absence de réaction, au contraire, n'est pas une indication sûre que l'individu n'ait pas la coqueluche ou ne l'ait pas eue récemment, la fixation de l'alexine n'apparaissant, en général, qu'à la 3e ou à la 4e semaine, quelquefois plus tard. Elle peut disparaître au bout de quelques mois, dans quelques cas encore plus vite. Dans des cas rares, elle peut manquer complètement, lorsque des anticorps fixant l'alexine manquent au sérum. D'après l'ensemble de nos recherches, qui confirment la découverte du génial savant belge Bordet, nous pensons qu'il est hors de doute que le microbe Bordet-Gengou est le microbe de la coqueluche.*

*
* *

Dans le but de juger de l'importance pratique de ces recherches, on a fondé à l'Institut sérothérapique de l'État une station de diagnostic de la coqueluche où, d'une part, on a fait l'examen d'expectorations reçues du dehors, d'autre part, des tentatives de fixation de l'alexine d'échantillons de sang reçus du dehors.

Jusqu'au milieu du mois de février 1916 on a reçu 110 échantillons d'expectoration et 11 échantillons de sang.

Pour ces derniers, il s'agissait dans un cas du placement

d'une garde-malade dans un hôpital d'enfants. Elle ignorait si elle avait eu la coqueluche, et pour l'apprendre on a fait l'examen, qui était négatif. 2 autres recherches furent négatives. Il s'agissait de 2 malades qui en étaient au début de la coqueluche. Les 8 autres cas furent positifs et ont été entrepris, en partie, dans un but diagnostique.

Quant aux échantillons d'expectoration, 17 étaient reçus de médecins exerçants, les 93 autres de différentes sections des enfants d'hôpitaux.

Dans la moitié des cas, le résultat concordait avec la marche de la maladie. Ainsi le microbe de la coqueluche n'a été trouvé dans aucun des cas qui, d'après ce qui a apparu plus tard, n'étaient pas de la coqueluche. On n'a pas trouvé non plus de microbes dans le cas de la coqueluche dans une période avancée, c'est-à-dire après la 4e semaine. Dans un certain nombre de cas on a trouvé les microbes, et l'examen y était souvent d'une grande importance diagnostique. Nous nous contenterons d'en citer ici 3.

Dans l'un, il s'agit de l'expectoration d'un malade du Jutland, un instituteur. De l'expectoration reçue on a retiré le microbe de la coqueluche en culture pure, et quelques semaines plus tard un échantillon de sang envoyé a fait voir que le malade avait aussi une forte fixation de l'alexine. Dans le second cas, il s'agit de l'expectoration d'un malade de l'hôpital d'enfants, chez lequel les microbes ont été trouvés, à la grande surprise de l'hôpital où on ne comprenait pas, en ce moment-là, d'où l'enfant qui était là depuis longtemps avait subi la contagion. On se rappela alors qu'un des médecins de l'hôpital toussait assez fortement et — c'est là le 3e cas — en examinant l'expectoration de ce médecin, on a trouvé le microbe de la coqueluche. Malheureusement, le médecin avait déjà donné la maladie à plusieurs enfants de l'hôpital.

Dans la moitié des cas, à peu près, on n'a pas trouvé de microbes de la coqueluche dans les échantillons d'expectoration reçus, quoique l'expectoration provînt d'enfants à la période catarrhale ou au commencement de la période convulsive.

La raison principale en était, à ce qu'on a vu, que l'expectoration n'était pas caractéristique, consistant souvent en restes d'aliments ou en mucosité de la bouche ou de l'arrière-

bouche. De plus, on a eu, pendant un assez long temps, des difficultés à préparer le milieu.

Dans 2 cas où il avait fallu répondre : pas de microbes de coqueluche, l'un de nous avait l'occasion, le lendemain, de recueillir l'expectoration, et nous avons eu alors une croissance luxuriante de microbes de la coqueluche, mais cela n'empêche pas que nous appréciions parfaitement les difficultés du médecin exerçant qui, naturellement, ne peut pas attendre jusqu'à ce qu'une expectoration caractéristique se présente. Ajoutez qu'il est, le plus souvent, pour ainsi dire impossible d'avoir l'expectoration à la période catarrhale, où le diagnostic est de la plus grande importance. C'est dans ce cas-là que la méthode de tousser contre le milieu doit montrer sa valeur, et les résultats obtenus jusqu'ici promettent assez pour qu'il soit de notre devoir de recommander cette méthode qui, nous l'avons dit déjà, pourra sans doute avoir de l'importance dans le diagnostic de la coqueluche au commencement de la maladie. Aujourd'hui, l'Institut sérothérapique de l'État envoie des milieux dans des boîtes de fer-blanc, transportables par la poste, à l'usage des sections des enfants des hôpitaux, des crèches, des salles d'asile, des asiles et aussi des médecins pratiquants.

* * *

Nous mentionnerons, pour finir, que nous avons préparé une vaccine, émulsion de microbes tués, que des médecins pratiquants, ainsi que nous-mêmes, avons essayée dans un petit nombre de cas, environ 60, partie comme moyen préventif, partie comme moyen thérapeutique. Le matériel est encore trop petit pour que nous puissions tirer des conclusions touchant la valeur de cette vaccine; mais comme, dans un certain nombre de cas, les résultats nous paraissent, à nous et à d'autres, favorables, nous allons continuer l'emploi de la vaccine en espérant pouvoir plus tard publier les résultats de ces expériences.

ORIGINE
ET DISTRIBUTION DE L'URÉE DANS LA NATURE
APPLICATION
DE NOUVELLES MÉTHODES D'ANALYSE DE L'URÉE
BASÉES SUR L'EMPLOI DU XANTHYDROL

par R. FOSSE.

INTRODUCTION

La formation de l'urée dans la nature représente une fonction infiniment plus importante et répandue qu'on ne l'avait cru jusqu'ici.

Nous désignerons sous le nom d'*Uréification* ce phénomène qui se manifeste à tous les degrés d'organisation de la matière vivante.

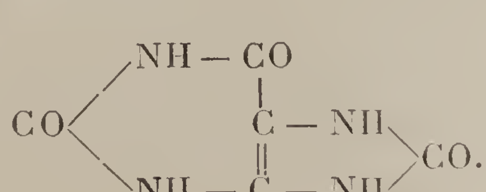
1. Chez l'homme, on sait, depuis longtemps, que la majeure partie de l'azote qui sort de l'organisme se trouve à l'état d'urée.

C'est, en effet, sous cette forme que se présentent les huit dixièmes au moins de l'azote total de l'urine (80 à 85 p. 100).

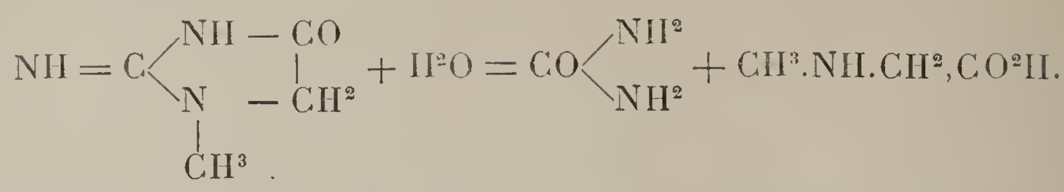
L'importance de la cause inconnue qui produit un tel résultat s'accroît encore, si l'on examine la nature chimique des autres produits d'excrétion azotés.

Ce sont pour la plupart des dérivés, plus ou moins proches, de l'urée ou de son imide, la guanidine :

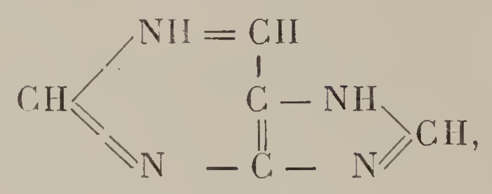
L'*acide urique*, contenant deux fois dans sa molécule le groupement de la carbamide



La *créatinine*, hydrolysable en urée et sarcosine



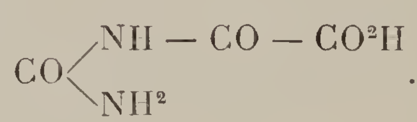
Les *bases puriques*, dérivées de la *purine*



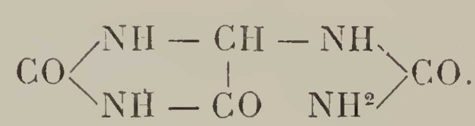
produit de réduction de l'acide urique.

A côté de ces matériaux constants de l'urine, qui représentent 5 à 6 p. 100 de l'azote total, on a encore signalé :

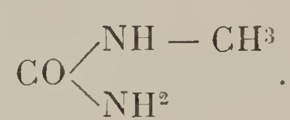
L'*acide oxalurique*



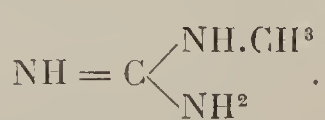
L'*allantoïne*



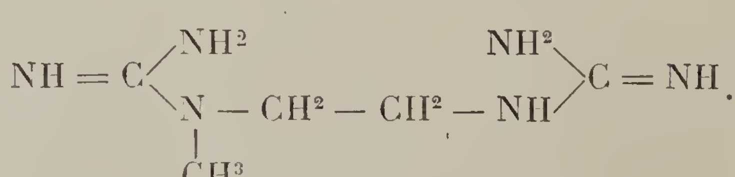
La *méthylurée*



La *méthylguanidine*



La *vitiatine*, qui aurait pour formule



2. Prépondérante chez l'homme et les mammifères, l'*uréification* se manifeste, avec plus ou moins d'importance, chez les autres *vertébrés* et les *invertébrés* eux-mêmes.

Nous avons mis hors de doute la présence de la carbamide chez les *Mollusques*, les *Insectes*, les *Crustacés*, les *Vers*, les *Echinodermes* et les *Cœlentérés*.

3. Mais les animaux, *supérieurs* ou d'*organisation rudimentaire*, ne sont pas les seuls êtres vivants capables de former l'urée.

L'*uréification* étend son action au delà du dernier échelon de la série animale : elle se produit avec la plus grande netteté chez les *végétaux*, aussi bien chez les individus d'*organisation élevée* que chez les *moisissures*.

Nous établirons, en effet, que l'urée, qui, malgré sa présence chez quelques champignons (Bamberger, Goris), n'avait été considérée, jusqu'au moment de nos recherches, que comme un produit d'origine et d'excrétion animales, se forme, à l'abri de toute contingence, dans des milieux artificiels de composition connue, pendant la *germination de la graine* sur l'eau pure ou des spores de l'*Aspergillus* et du *Penicillium* sur liquide Raulin.

Elle fait son apparition spontanée lorsqu'on expose simplement ce milieu nutritif, en vase ouvert, aux germes de l'atmosphère.

4. Nos expériences révèlent enfin que l'*uréification* a lieu encore dans le sol lui-même.

5. Quelle est l'*origine* de cette substance, *présente à tous les degrés d'organisation de la matière vivante*?

Le problème n'a été jusqu'ici envisagé que dans les limites de la série animale : pour les mammifères et pour l'homme principalement.

Les nombreux auteurs, qui, depuis plus de soixante-dix ans, en poursuivent la solution aboutissent aux hypothèses suivantes :

a) *L'urée, que nous rejetons, est produite directement par l'oxydation de l'albumine.*

Les résultats contradictoires, obtenus à la suite des nombreuses tentatives faites pour démontrer la présence de l'urée dans les produits résultant de l'oxydation artificielle de l'albumine, ont conduit à abandonner cette conception.

b) *L'urée doit sa formation*, in vivo, *à l'oxydation des acides aminés.*

Cette conclusion s'appuie sur un fait : la production artificielle de l'urée par oxydation des acides aminés, et sur une hypothèse : l'existence des acides aminés à l'état libre dans le sang et les tissus.

c) *Une faible partie de l'urée de l'urine* (10 *p.* 100 *au*

maximum) dérive par hydrolyse diastasique d'un acide aminé, constituant des protéiques, l'arginine.

Cette hypothèse repose sur la découverte dans le foie d'un ferment, l'*arginase*, hydrolysant l'arginine.

d) Enfin la théorie universellement admise aujourd'hui prétend que : *L'urée proviendrait, par réaction anaérobie, de l'acide carbonique et de l'ammoniaque, produits ultimes des combustions.*

Une diastase déshydraterait leur combinaison, le carbonate ou le carbamate d'ammoniaque, caustiques et toxiques, afin de les changer l'un ou l'autre en corps neutre et inoffensif

$$CO\langle{}^{O.NH^4}_{O.NH^4} = 2\,H^2O + CO\langle{}^{NH^2}_{NH^2}$$

$$CO\langle{}^{O.NH^4}_{NH^2} = H^2O + CO\langle{}^{NH^2}_{NH^2}$$

C'est là la doctrine régnante, acceptée partout, bien qu'on n'ait pu réussir à démontrer l'existence d'un ferment capable de réaliser pareille synthèse, par enlèvement d'eau au carbonate ou au carbamate d'ammoniaque.

L'uréogenèse serait ainsi une fonction anaérobie, de nature très particulière, créée dans un but de défense antitoxique et exécutée par de mystérieux agents dont la vie animale aurait le privilège.

6. Nous établissons par des expériences, simples et faciles à reproduire, que :

Les trois classes de matériaux carbonés des êtres vivants, protéiques, hydrates de carbone et graisses sont capables de former artificiellement l'urée par oxydation et, par conséquent, susceptibles de participer au grand et mystérieux phénomène de l'uréification.

L'urée est, en effet, un produit constant de l'oxydation permanganique des *albuminoïdes*.

Oxyde-t-on un mélange de ces deux corps, le *glucose* et l'*ammoniaque*, qui apparaissent et disparaissent incessamment dans chaque cellule de l'organisme animal : l'urée prend naissance, mais avec plus de facilité et d'abondance que dans le cas de l'albumine.

Nous réalisons encore la même synthèse en brûlant, par voie humide, en présence d'*ammoniaque*, la *glycérine*, constituant des *corps gras*.

Il est aisé de démontrer que *de très petites quantités d'ammoniaque*, 1 *centigramme* (0 *gr.* 01), *par exemple, ne peuvent échapper à l'obligation de produire de l'urée pendant la combustion du glucose.*

L'uréification artificielle de l'ammoniaque en présence du glucose est encore possible, si l'on prend l'ammoniaque à de fortes dilutions (0 *gr.* 10 *à* 0 *gr.* 01 *par litre*) *comparables et même supérieures à celles où il se présente dans l'organisme.*

Mais l'ammoniaque n'est pas le seul principe naturel azoté qui, en présence du glucose, produise d'importantes quantités d'urée.

L'aptitude du glucose à l'uréification n'est pas moins remarquable, lorsqu'on provoque son oxydation en présence de la substance mère de l'ammoniaque dans l'organisme, l'albumine elle-même.

Tandis que le rendement de l'uréification artificielle des albuminoïdes par oxydation est assez faible, il s'élève brusquement, au contraire, à des valeurs considérables, si, dans des conditions expérimentales *convenables*, on oxyde *simultanément* l'albumine et le glucose.

Nous sommes ainsi dans la nécessité d'admettre qu'*une importante relation, demeurée jusqu'ici complètement ignorée, existe entre la glycogenèse et l'uréogenèse.*

De l'ensemble de ces synthèses nous concluons, en outre, que le mécanisme de la formation de l'urée chez l'animal, ne consiste pas dans la *déshydratation* de l'ammoniaque et d'un résidu carboné *minéral, incombustible et inoxydable, l'acide carbonique.*

La réaction qui lui donne naissance n'est pas *endothermique* et *anaérobie*, mais au contraire *exothermique* et *aérobie*.

Elle est due à la combustion des principes naturels et des produits de simplification, *combustibles*, qui en dérivent.

7. La carbamide se produit constamment encore dans l'oxydation ammoniacale des *hydrates de carbone, d'origine végétale* : lévulose, saccharose, dextrine, inuline, amidon, cellulose, ainsi que de leur générateur, l'*aldéhyde formique.*

Ces synthèses nous expliquent, de la même manière que chez les animaux, la présence de l'urée chez les végétaux. Ce sont elles, d'ailleurs, qui nous ont conduit à chercher et à découvrir la formation de ce corps par cette catégorie d'êtres vivants.

L'urée, incluse dans la plantule et même dans l'embryon des végétaux supérieurs, résulte de l'oxydation des principes carbonés et azotés, en réserve dans la graine.

La cellule des moisissures réalise la même synthèse, lorsqu'elle édifie ses tissus en brûlant du sucre et de l'ammoniaque.

8. L'uréification établit donc un nouveau lien entre animaux et végétaux, puisque l'urée existe chez les uns et les autres et qu'elle provient, selon toute vraisemblance, dans les deux cas, d'une origine commune : l'oxydation de principes de même nature.

Cependant, excrétée par l'animal, elle est, au contraire, absorbée par le végétal. D'après d'anciennes expériences, les plantes se développent en effet normalement lorsqu'elles reçoivent de l'azote exclusivement sous forme d'urée.

Faut-il en conclure que l'urée est directement assimilable par la cellule végétale et que, dès lors, sa molécule intacte vient faire partie intégrante de la molécule protéique?

Non.

Le rôle et l'utilité de l'uréase dans les plantes, insoupçonnés jusqu'ici, parce que l'on ignorait la formation de l'urée par leurs cellules, consiste précisément à détruire ce corps afin de rendre son azote assimilable en le transformant en ammoniaque.

C'est pourquoi, comme nous l'avons démontré, le même végétal peut contenir à la fois de l'urée et de l'uréase, et être ainsi le siège des deux phénomènes inverses de formation et de destruction de ce corps.

9. Ces notions ont été acquises en utilisant, depuis de nombreuses années, deux nouvelles méthodes d'analyse, qualitative et quantitative de l'urée, singulièrement sûres et sensibles, qui permettent aisément de reproduire, contrôler et élargir les résultats que nous venons de résumer.

Quoique l'étude de nos procédés analytiques n'ait pu être

terminée entièrement et que nous nous réservions de les perfectionner encore, nous exposerons, dans une *première partie* de ce travail, le principe sur lequel ils reposent; les curieuses propriétés et la préparation du réactif qu'ils nécessitent; les modes opératoires, enfin, applicables à l'identification et au dosage de très petites quantités d'urée, dans un milieu quelconque, artificiel ou biologique.

La deuxième partie sera consacrée à la formation de l'urée aux dépens de l'albumine.

Dans la troisième, nous établirons la synthèse de ce corps aux dépens de l'ammoniaque oxydée en présence des hydrates de carbone, des graisses ou de l'aldéhyde formique.

On démontrera enfin, comme conséquences de ces synthèses, la présence de l'urée chez les invertébrés dans une *quatrième partie* et chez les végétaux dans une *cinquième*.

PREMIÈRE PARTIE

ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE GRAVIMÉTRIQUE DE L'URÉE, AU MOYEN DU XANTHYDROL

CHAPITRE PREMIER

ISOLEMENT DE L'URÉE PAR LES MÉTHODES CONNUES JUSQU'ICI ET PAR LE XANTHYDROL

1. Méthodes usitées jusqu'ici. — Pour qu'une substance puisse bénéficier des procédés d'identification les plus sûrs (analyse élémentaire, vérification des constantes physiques), il est indispensable de l'isoler à l'état pur.

Quand il s'agit de l'urée, la réalisation de cette condition devient singulièrement délicate et pénible.

a) *Méthode de Schrœder.* — Cette méthode, la plus anciennement connue, basée sur la formation et la décomposition de la combinaison uréo-mercurique de Liebig, comporte les manipulations suivantes :

1° Précipitation par l'alcool d'une partie des substances en solution;

2° Évaporation du filtrat hydro-alcoolique;

3° Traitement du résidu dissous dans l'eau par le nitrate mercurique et la baryte;

4° Décomposition du précipité par l'hydrogène sulfuré ;

5° Élimination du sulfure par filtration et de H^2S par un courant d'air ;

6° Neutralisation par la baryte de l'acide azotique provenant du nitrate mercurique ;

7° Précipitation par le gaz carbonique de la baryte en excès ;

8° Filtration, évaporation à sec dans le vide au-dessous de 70° ;

9° Épuisement du résidu par l'alcool absolu ;

10° Addition à la liqueur alcoolique de trois fois son volume d'éther acétique ;

11° Filtration, évaporation ;

12° Application de ce traitement par l'alcool et l'éther acétique à l'extrait sec, deux ou trois fois ;

13° Si des cristaux d'urée n'apparaissent pas, on tente, par addition au résidu de quelques gouttes d'acide azotique, d'isoler *son nitrate, qui offre d'ailleurs une trompeuse ressemblance avec l'azotate de potassium.*

On est obligé de reconnaître, ou bien que cette méthode manque de sensibilité, ou que son application exige une grande habileté.

Il suffit, pour s'en convaincre, de se reporter aux conclusions contradictoires qui ont été émises et aux vives discussions qui se sont élevées à la suite des tentatives faites par divers chercheurs pour isoler l'urée ou simplement la caractériser dans un même cas déterminé, *l'oxydation de l'albumine.*

Plusieurs d'entre eux n'ont pu réussir à saisir la moindre trace de ce corps dans une solution, qui en contenait, cependant, *plusieurs décigrammes*, ainsi que nous le montrerons dans ce travail.

De là est née l'opinion, admise dans la littérature, jusqu'au jour où nous avons entrepris ces recherches, que les chimistes *n'avaient pas réussi à produire de l'urée par l'action de réactifs oxydants sur l'albumine.*

Les autres procédés proposés pour isoler la carbamide ne pas moins laborieux.

b) *Extraction de l'urée de l'urine par la méthode de Salkowski* (1). — 200 à 300 cent. cubes d'urine de chien ou un volume double d'urine humaine sont additionnés d'un mélange d'eau de baryte (2 vol.) et de solution saturée de nitrate de baryum (1 vol.), jusqu'à ce qu'il ne se produise plus de précipité. Le filtratum, réuni aux eaux de lavage du précipité, est évaporé d'abord, à feu nu, puis au bain-marie, dès que le volume atteint 200 cent. cubes.

Après addition d'alcool (130 cent. cubes) au produit sirupeux, filtration et

(1) SALKOWSKI, *Praktikum d. phys. u. pathol. Chemie*, 1900.

concentration au bain-marie, le plus loin possible, on ajoute au résidu refroidi deux fois son volume d'acide nitrique.

Le nitrate d'urée est recueilli le lendemain, lavé avec un peu d'acide nitrique froid, puis séché par contact avec une matière poreuse (papier, porcelaine).

Après avoir complètement neutralisé la solution aqueuse de ce sel par addition à chaud de carbonate de calcium, on décolore par le noir animal, filtre et évapore à sec.

L'urée est séparée du nitrate calcique par dissolution dans l'alcool, d'où elle cristallise après concentration.

Une deuxième cristallisation est nécessaire pour obtenir le corps pur.

c) *Extraction de l'urée de l'urine humaine par Lippichs* (1). — L'urine est traitée, d'abord, par son volume de liqueur de Mörner-Sjöquist (solution saturée de chlorure de baryum contenant en outre 5 p. 100 d'hydrate de baryte) et ensuite par 20 volumes d'un mélange formé d'une partie d'éther et de deux parties d'alcool.

Après 48 heures de contact, durant lesquelles on agite fréquemment, le liquide décanté est saturé de gaz carbonique, filtré et évaporé à 40°.

Le résidu, *séché dans le vide sulfurique*, pulvérisé, séché à nouveau, est épuisé par l'alcool absolu. On filtre et évapore la solution, à 40° dans le vide.

L'extrait, *séché dans le vide sulfurique*, pulvérisé et séché à nouveau, est épuisé par de l'éther et de l'alcool absolus, pris à volumas égaux.

Le nouvel extrait, sec et pulvérisé, est épuisé par un dissolvant formé d'alcools éthylique et amylique.

L'alcool éthylique ayant été chassé, la solution amylique reçoit de l'acide oxalique, *anhydre, sublimé*, en assez grand excès, puis de l'éther (2 à 3 vol.), *séché sur sodium et saturé d'acide oxalique anhydre*.

Après 24 heures, on traite par le carbonate de chaux la solution aqueuse du dépôt formé d'oxalate d'urée et d'acide oxalique, préalablement lavé à l'éther anhydre, saturé d'acide oxalique.

Dès que la réaction est devenue neutre, on filtre, évapore à l'air, filtre à nouveau pour éliminer une petité quantilé d'oxalate calcique, qui se dépose au début de la concentration, puis finalement on évapore à sec.

Le produit est de l'urée pure avec son point de fusion exact.

2. Principe de la méthode d'analyse qualitative de l'urée, basée sur l'emploi du xanthydrol. — Au lieu de chercher à retirer péniblement une fraction, plus ou moins réduite, de la substance incluse dans un mélange, à la suite d'une longue série de manipulations, nous la précipitons *directement et presque intégralement, à une très faible erreur près*, des solutions où elle peut se trouver mêlée, sans inconvénients, à un certain nombre de substances minérales ou organiques. Nous obtenons l'urée sous la forme d'une *combinaison définie*, *cris-*

(1) Lippichs, *Zeitschrift für phys. Chemie*, 1906, t. XL, p. 60.

tallisée, caractéristique, de poids moléculaire élevé, découverte au cours de précédents travaux sur les *sels de pyryle* et les alcools *aromatiques*.

La méthode est aisément applicable aux *liquides biologiques*, non seulement à *l'urine de l'homme et des animaux*, mais aussi, ainsi que nous avons pu l'établir, avec MM. A. Robyn et F. François, *au sang*, *au lait*, *aux purées d'organes*, préalablement dépouillés des protéiques à froid, sans précipitation alcoolique ni concentration.

Dans n'importe quel cas, l'obtention de cette combinaison spécifique de l'urée, *pure à l'analyse*, ne nécessite pas 3 heures d'un travail très simple, à la portée du moins expérimenté des chimistes.

Une quantité d'urée de *cinq centigrammes* (0 gr. 05) *au maximum*, contenue dans un important volume de solution ou dans un milieu biologique quelconque, suffit largement pour permettre, après recristallisation de sa combinaison caractéristique brute, de baser l'identification de ce corps sur le plus sûr des criteriums, *l'analyse organique élémentaire*, accompagnée de la vérification des constantes physiques.

Mais 5.000 *fois moins de matière, un centième de milligramme* (0 gr. 00001) ne saurait passer inaperçu en utilisant des procédés microchimiques.

Tandis que 200 à 300 cent. cubes d'urine de chien ou un volume double d'urine humaine sont nécessaires à Salkowski pour isoler l'urée à l'état de pureté, 2 à 5 cent. cubes d'urine humaine nous permettent d'obtenir l'urée dixanthylée, pure à l'analyse et en quantité suffisante, même après recristallisation, pour pouvoir effectuer cette détermination quantitative.

Lorsque Dumas voulut démontrer par l'analyse élémentaire, la présence de l'urée dans le sang, il fit porter ses expériences d'extraction sur le sang d'animaux (chien, chat, lapin) ayant subi depuis plusieurs jours l'ablation des reins, saignés au moment où leur état lui faisait « présumer qu'ils n'avaient plus que peu de temps à vivre ».

Si l'on voulait reproduire cette expérience célèbre, il suffirait de prendre 150 à 200 cent. cubes de sérum normal de porc, bœuf ou cheval. L'opération complète de préparation de notre combinaison caractéristique, y compris sa cristallisation et le

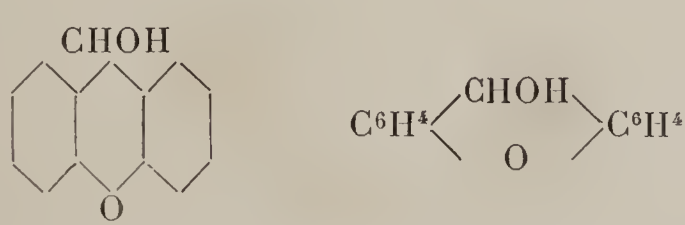
dosage de l'azote par titrage alcalimétrique, peut être aisément accomplie en 4-5 heures.

C'est un sujet de manipulation facile pour un élève.

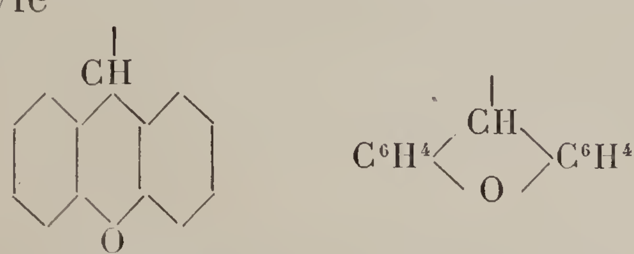
Dans une goutte de solution, récemment préparée, de *xanthydrol* dans l'acide acétique, contenant quelques centièmes d'eau, introduit-on un fragment de cristal d'urée, aussi petit que possible, on voit bientôt un précipité volumineux apparaître.

A 1 cent. cube de solution titrée, contenant un centigramme d'urée par litre (0 gr. 01), correspondant, par conséquent, à un centième de milligramme (0 gr. 00001) d'urée, on ajoute 1 cent. cube d'acide acétique cristallisable et 0 cent. cube 08 de solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique, à l'aide d'une pipette graduée à 1/100 de centimètre cube. En moins de 10 minutes, le mélange, primitivement limpide, se trouble et abandonne de légers flocons, qui, à un très fort grossissement du microscope, apparaissent formés de petites aiguilles groupées.

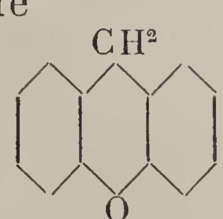
Deux molécules de xanthydrol, alcool de la série hétérocyclique



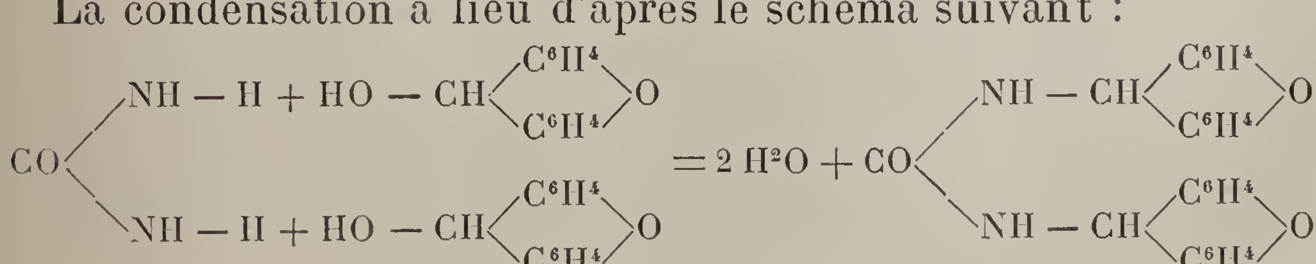
se sont unies à une seule molécule d'urée pour donner, avec élimination de deux molécules d'eau, un dérivé de l'urée, dont deux atomes d'hydrogène sont remplacés symétriquement par le radical xanthyle



correspondant au xanthane



La condensation a lieu d'après le schéma suivant :



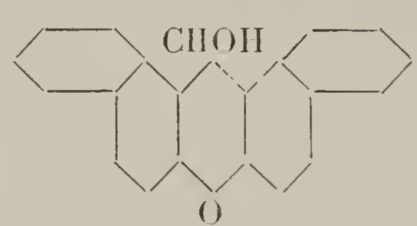
Avant d'indiquer les conditions expérimentales de cette réaction et la technique que nous suivons, il est indispensable de faire connaître, tout d'abord, les curieuses propriétés et l'incomparable activité chimique du xanthydrol.

CHAPITRE II

SUR LES PROPRIÉTÉS DU XANTHYDROL ET DES SELS DE PYRYLE

De cet alcool, obtenu par R. Meyer et Saul (1) en 1893, on ne connaissait, avant nos travaux, que son altérabilité; on ignorait tout de ses remarquables propriétés. Consulter Beilstein.

A la suite de la découverte du *dinaphtopyranol*



$$C^{10}H^6 \left\langle \begin{matrix} CHOH \\ O \end{matrix} \right\rangle C^{10}H^6,$$

des *sels de pyryle* et de leurs caractères extrêmement curieux, inconnus jusqu'alors pour les corps sans azote, nous avons été conduit à étudier des pyranols plus simples, le diphénopyranol ou xanthydrol, par exemple, afin de généraliser, s'il y avait lieu, les notions acquises par nos premières recherches.

En réalité, ce *monoalcool*, dérivé du pyrane,

$$C^{10}H^6 \left\langle \begin{matrix} CHOH \\ O \end{matrix} \right\rangle C^{10}H^6 \quad \text{ou} \quad C^{21}H^{14}O^2$$

est apparu dans la littérature, près de 20 ans avant nos propres recherches, avec une formule brute et des propriétés singulièrement erronées ou méconnues (2).

Par suite des difficultés matérielles considérables que pré-

(1) R. Meyer et Saul, *Berichte*, 1893, t. XXVI, p. 1276.

(2) G. Rousseau, Sur un nouveau glycol aromatique. *Annales de chimie et de physique*, 1883, 5e s., t. XXXVII, p. 145-198.

R. Fosse, Sur le prétendu binaphtylène-glycol. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1902, t. CXXXIV, p. 662. — R. Fosse, Sur la nature et les propriétés des corps formés dans l'action du chloroforme sur le naphtol β. *Bull. Soc. Chim.*, 1902, t. XXVII, p. 496-539.

sentait son étude et de ses propriétés tout à fait inattendues, sans exemple en chimie organique, il avait été considéré comme : possédant *deux fonctions alcool tertiaire*; pourvu d'une *chaîne éthylénique* et dérivant, enfin, du *binaphtyle*.

Ce prétendu binaphtylène glycol

$$\begin{array}{l} C^{10}H^6 - C - OH \\ \,| \qquad\quad \| \\ C^{10}H^6 - C - OH \end{array} \quad \text{ou} \quad C^{22}H^{14}O^2,$$

obtenu à côté de l'aldéhyde désiré

$$HO - C^{10}H^6 - C\Big\langle\begin{array}{l} O \\ H, \end{array}$$

en appliquant au naphtol β la méthode de synthèse des aldéhydes-phénols, découverte par Reimer et Tiemann, aurait été engendré d'après le schéma suivant :

$$\begin{array}{l} H + HO - C^{10}H^6 - C\Big\langle\begin{array}{l} O \\ H \end{array} \\ H + HO - C^{10}H^6 - C\Big\langle\begin{array}{l} O \\ H \end{array} \end{array} \rightarrow 2\,H^2O + \begin{array}{l} C^{10}H^6 - C - OH \\ \,| \qquad\quad \| \\ C^{10}H^6 - C - OH \end{array}$$

Après avoir d'abord préparé synthétiquement le dinaphtopyranol en partant du naphtol β et de l'aldéhyde formique

$$CH^2O + 2H - C^{10}H^6 - OH = CH^2\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 - OH \\ C^{10}H^6 - OH \end{array}$$

$$CH^2\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 - OH \\ C^{10}H^6 - OH \end{array} = H^2O + CH^2\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\Big\rangle O$$

$$CH^2\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\Big\rangle O + Br^2 = HBr + Br - CH\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\Big\rangle O$$

$$Br - CH\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\Big\rangle O + KOH = KBr + CHOH\Big\langle\begin{array}{l} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\Big\rangle O$$

puis démontré son identité avec le prétendu glycol par tout un ensemble de réactions, nous avons entrepris l'étude de ce corps.

En dehors de sa coloration au contact des acides, toutes les autres propriétés qu'il manifeste — *basicité*, *caractère métallique*, *pouvoir oxydant*, *activité chimique* — étaient demeurées totalement inconnues. *La ressemblance du dinaphtopyranol avec les bases est si frappante qu'elle a pu faire attribuer à la*

combinaison non azotée de cet alcool avec l'acide chloroplatinique la formule d'un sel double d'amine.

Le corps qui avait été représenté dans la littérature par :

$$\begin{array}{l} PtCl^4 + 2\,HCl, NH^2 - C - C^{10}H^6 \\ \qquad\qquad\qquad\quad\;\; \| \quad\;\; | \\ \qquad\qquad\qquad HO - C - C^{10}H^6 \end{array}$$

ne contient, en réalité, pas trace d'azote, ainsi que l'établissent la recherche de cet élément et l'analyse quantitative complète.

Le chloroplatinate de cette prétendue amine n'est, en effet, autre chose que le chloroplatinate de dinaphtopyryle

$$PtCl^4 + 2\,Cl.CH\left\langle\begin{array}{c} C^{19}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{array}\right\rangle O$$

Une telle méprise demande quelques éclaircissements sur les circonstances dans lesquelles elle a pu se produire.

En traitant successivement par l'acide chlorhydrique et le chlorure de platine l'amine du prétendu glycol

$$\begin{array}{l} NH^2 - C - C^{10}H^6 \\ \qquad\;\; \| \quad\;\; | \\ HO - C - C^{10}H^6 \end{array}$$

l'auteur du travail cité obtint un chloroplatinate dans lequel il se contenta de doser un seul élément, le platine, comme on le fait couramment lorsqu'il s'agit de vérifier la formule attendue, évidente, normale d'un sel banal d'une base de composition bien connue. Il fut ainsi conduit par cet unique dosage à décrire comme sel d'amine un corps sans azote et à laisser échapper la découverte d'une curieuse fonction chimique.

En réalité, l'amine du prétendu glycol perd son azote au contact de l'acide chlorhydrique en donnant deux chlorures : du chlorure d'ammonium (NH^4Cl), d'une part, et le chlorure non azoté du prétendu glycol, d'autre part, répondant en réalité à la formule

$$Cl.CH\left\langle\begin{array}{c} C^6H^4 \\ C^6H^4 \end{array}\right\rangle O.$$

Ce chlorure forme bien avec le chlorure de platine le chloroplatinate d'une base, mais d'une base oxygénée sans azote :

$$PtCl^4 + 2\,Cl.CH\left\langle\begin{array}{c} C^6H^4 \\ C^6H^4 \end{array}\right\rangle O$$

L'étude de la véritable nature des corps formés dans l'action

du chloroforme sur le naphtol β nous a conduit à la découverte de tout un ensemble de propriétés et de réactions propres aux alcools aromatiques. Ces notions sont venues troubler d'abord, élargir ensuite nos idées fondamentales classiques sur la fonction chimique.

Ce nouveau chapitre de la chimie organique, inauguré par nous dès 1901, a pris à l'heure actuelle un développement important.

Par leur *activité chimique*, leurs *propriétés oxydantes* et *basiques* ainsi que par le *caractère anorganique* et *métallique* de leur radical, le dérivé hydroxylé du dinaphtopyrane et celui du diphénopyrane paraissent cumuler chacune des fonctions qui suivent :

Aldéhyde et acétone,
Peroxyde,
Quinone,
Diazoïque,
Base minérale et *métallique*,
Alcaloïde.

A. — Activité chimique du xanthydrol.

1. Combinaison du xanthydrol avec les réactifs azotés spécifiques des aldéhydes et des acétones. — Le xanthydrol se comporte comme un véritable aldéhyde ou acétone à l'égard de l'hydroxylamine, de la semi-carbazide, de la phénylhydrazine.

Place-t-on en solution alcoolique, à froid, le xanthydrol et l'hydroxylamine libre, leur combinaison se précipite rapidement.

La *xanthylhydroxylamine* résulte de l'élimination d'une molécule d'eau entre le xanthydrol et l'hydroxylamine.

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - OH + H.NHOH = H^2O + O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NHOH$$

La réaction qui lui donne naissance ressemble, à la double liaison près, à celle qui produit les oximes

$$R - C\left\langle\begin{matrix}H\\O\end{matrix}\right. + H^2NOH = H^2O + R.CH = N.OH$$

$$\left.\begin{matrix}R\\R^1\end{matrix}\right\rangle C = O + H^2NOH = H^2O + \left.\begin{matrix}R\\R^1\end{matrix}\right\rangle C = NOH$$

La *xanthylhydroxylamine* commence à fondre à partir de 140° avec production d'eau, d'azote et d'un nouveau type de dérivé pyranique, le *dixanthyle*, fondant à 204°,5

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O,$$

correspondant au dixanthylène connu

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle C = C\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O.$$

La semicarbazide s'unit au xanthydrol, dans les mêmes circonstances, pour former la *xanthylsemicarbazide*

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.NH.CO.NH^2$$

fondant avec décomposition vers 170°, d'après une réaction qui, abstraction faite de la double liaison, est calquée sur la formation des semi-carbazones

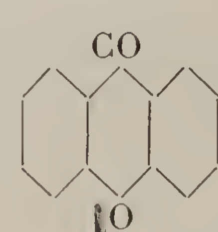
$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - OH + H.NH.NH.CO.NH^2 = H^2O + O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.NH.CO.NH^2$$

$$R.CHO + H^2N.NH.CO.NH^2 = H^2O + R.CH = N.NH.CO.NH^2$$

$$\left.\begin{matrix}R\\R'\end{matrix}\right\rangle C = O + H^2N.NH.CO.NH^2 = H^2O + \left.\begin{matrix}R\\R^1\end{matrix}\right\rangle C = N.NH.CO.NH^2$$

La *xanthylphénylhydrazine* se précipite d'une solution alcoolique acétique contenant ses deux composants.

L'activité du xanthydrol à l'égard des réactifs azotés des aldéhydes et des acétones est d'autant plus surprenante que la cétone correspondante, la xanthone



ne se combine ni à l'hydroxylamine, ni à la phénylhydrazine (1)

(1) Grœbe et Röder ont pu préparer l'oxime de la xanthone par une voie détournée aux dépens d'un dérivé de la xanthone, la xanthione

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CS + H^2N.OH = H^2S + O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle C = N.OH$$

Berichte, 1890, t. XXXII, p. 1690.

(Spiegler) (1), ni à la semicarbazide, ainsi que nous l'avons constaté nous-même.

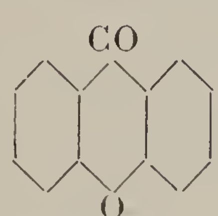
La fonction chimique classique se trouve en complet bouleversement dans le xanthydrol et la xanthone.

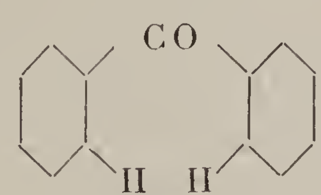
Le xanthydrol a hérité, semble-t-il, de l'activité chimique perdue par la fonction cétone de la xanthone.

Quelle est la cause de ces anomalies?

Tandis que la xanthone est sans action sur l'hydroxylamine, la phénylhydrazine et la semicarbazide, la benzophénone au contraire se conduit normalement comme une cétone à l'égard de ces réactifs.

Or la xanthone ne diffère de la benzophénone que par 1 atome d'oxygène, substitué à 2 atomes d'hydrogène, pris chacun en ortho dans les deux noyaux benzéniques de la diphénylcétone



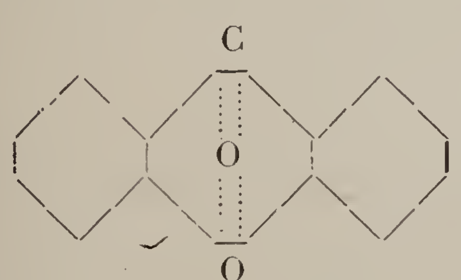


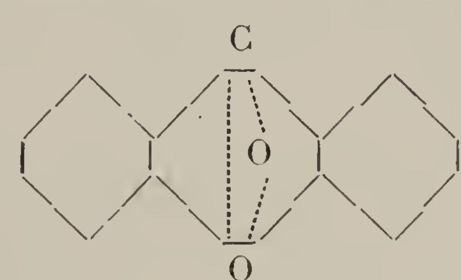
Il en résulte que :

L'atome d'oxygène, fermant le noyau pyronique de la xanthone, paralyse l'action de l'oxygène cétonique sur les réactifs azotés des cétones.

Pour expliquer cette anomalie fonctionnelle, nous avons, en 1902 (2), émis l'hypothèse d'une attraction exercée entre les deux groupements O et CO.

L'un et l'autre des schémas traduisent cette manière de voir :





L'impossibilité de condenser directement la xanthone et l'hydroxylamine pour obtenir l'oxime

$$O\begin{matrix} \diagup C^6H^4 \diagdown \\ \diagdown C^6H^4 \diagup \end{matrix} CH = N.OH$$

(1) Spiegler, *Berichte*, 1884, t. XVII, p. 808.

(2) R. Fosse, Les bases oxygénées et la valence de l'oxygène. *Revue générale des sciences pures et appliquées*, octobre 1902, p. 941.

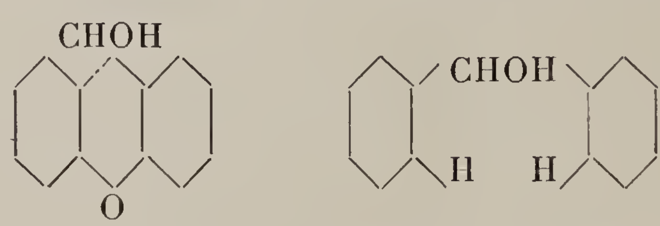
s'explique alors aisément par la soudure des deux atomes d'oxygène O et CO, qui s'oppose à la formation du produit d'addition, intermédiaire, instable

$$O\left\langle\begin{matrix} C^6H^4 \\ C^6H^4 \end{matrix}\right\rangle C \left\langle\begin{matrix} OH \\ NH.OH \end{matrix}\right.$$

précurseur nécessaire de l'oxime.

Tandis que le xanthydrol se combine, à froid et en milieu alcoolique, à l'hydroxylamine, le benzhydrol, dans les mêmes circonstances, demeure inaltéré.

Si on compare la formule de ces deux alcools :



on est conduit à en déduire une conséquence inverse de la précédente. L'atome d'oxygène, fermant le noyau pyranolique du xanthydrol, communique à l'oxhydryle du groupement carbinol secondaire la faculté de réagir directement, en milieu alcoolique neutre, sur l'hydroxylamine et la semi-carbazide.

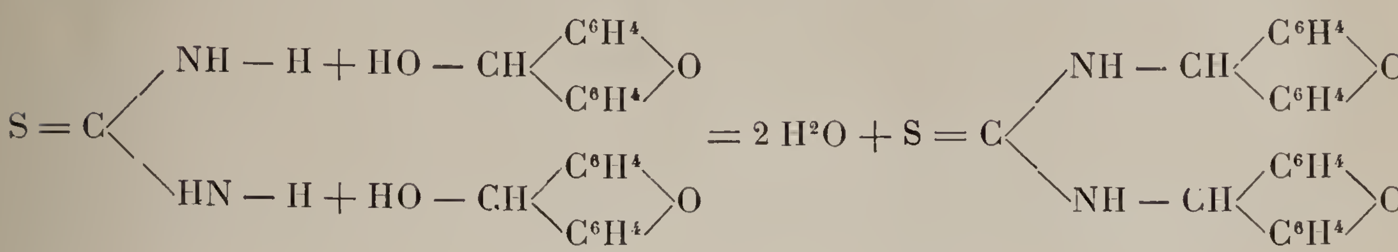
Nous ne ferons pas ici l'étude des nombreux dérivés xanthylés que nous avons préparés ou fait préparer. Nous nous bornerons à énumérer les principaux avec leurs formules et points de fusion, afin que si l'un d'entre eux venait éventuellement à se précipiter d'une liqueur quelconque, soumise à l'analyse, toute confusion avec la dixanthylurée soit rendue impossible.

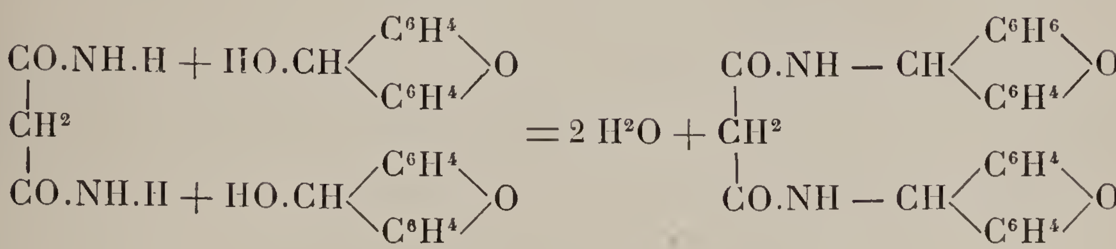
2. Action du xanthydrol sur les amides, diamides, éthers carbamiques, imides et amines. — L'oxhydryle du xanthydrol s'empare aisément de 1 atome d'hydrogène des monamides primaires pour former, avec élimination d'eau, une amide xanthylée

$$O\left\langle\begin{matrix} C^6H^4 \\ C^6H^4 \end{matrix}\right\rangle CH - OH + H.NH.CO.R = H^2O + O\left\langle\begin{matrix} C^6H^4 \\ C^6H^4 \end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.R$$

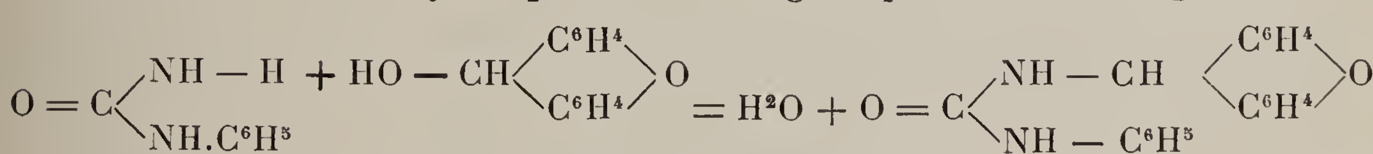
Avec les diamides non substituées, urée, thiourée, malona-

mide, succinamide, etc., cette réaction se produit deux fois :

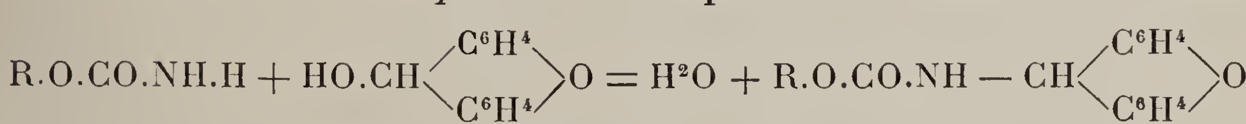




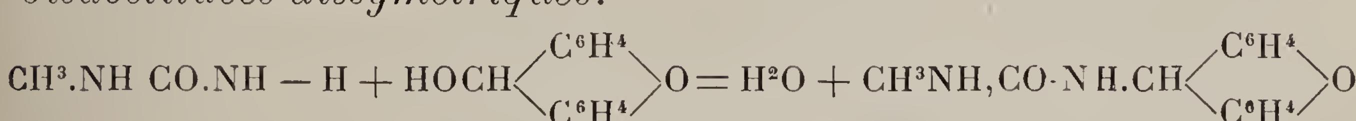
Si, dans les diamides, 1 atome d'hydrogène de l'azote est remplacé par un radical carboné, la condensation avec le xanthydrol ne se produit alors qu'entre molécules égales et la substitution xanthylée porte sur le groupement azoté primaire

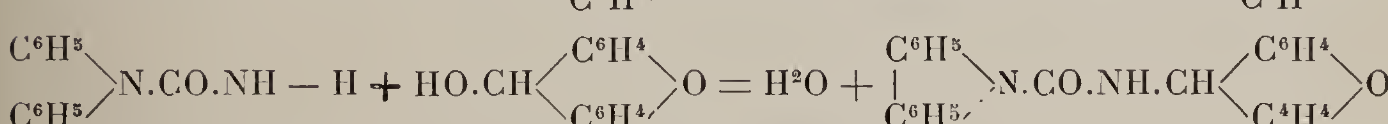


Les *éthers carbamiques* se comportent comme les amides



Dans un intéressant travail, fait au laboratoire du professeur Franchimont, W. Adriani (1) a constaté que le xanthydrol se combine équimoléculairement *aux urées monosubstituées et bisubstituées dissymétriques*.



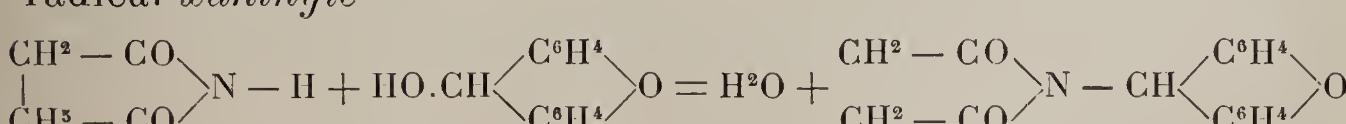


Les urées bisubstituées symétriques

R.NH — CO — NH.R

refusent, par contre, de se condenser avec le xanthydrol.

L'hydrogène de l'azote des *imides* est remplaçable par le radical *xanthyle*



(1) W. Adriani, De werking van xanthydrol op eenige amiden en aminen. *Thèse*. Leide, 1914. — *Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas*, 1915. t. XXXV, p. 180-210.

Tous ces composés azotés, mono- ou dixanthylés, se scindent au contact des acides minéraux en régénérant leurs composants ou en formant les produits d'altération qui en dérivent :

$$\underset{\substack{\|\\ \mathrm{O}}}{\mathrm{R-C}}\mathrm{.NH-CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^3}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O} + \mathrm{H^2O} = \underset{\substack{\|\\ \mathrm{O}}}{\mathrm{R-C}}\mathrm{.NH^2} + \mathrm{CHOH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}$$

$$\mathrm{O=C}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{NH-CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}\\ \mathrm{NH-CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}\end{matrix}\right. + 2\,\mathrm{H^2O} = \mathrm{CO}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{NH^2}\\ \mathrm{NH^2}\end{matrix}\right. + 2\,\mathrm{CHOH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}$$

Amides xanthylées.

Xanthylacétamide : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.CH^3}$.

Aiguilles brillantes, fondant sur le bain de mercure avec sublimation vers 245° (n. c.). Fusion tube étroit, 238°-244° (n. c.).

Xanthylpropionamide : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.CH^2.CH^3}$

Belles aiguilles incolores, fusion tube étroit. 211°-214° (n. c.).

Xanthylbutyramide : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.CH^2.CH^2.CH^3}$.

Belles aiguilles incolores, fusion tube étroit, 186°-187° (n. c.).

Xanthylisovaléramide : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.CH^2.CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{CH^3}\\ \mathrm{CH^3}\end{matrix}\right.$

Aiguilles soyeuses blanches; fusion tube étroit 182°-184° (n. c.).

Xanthylphénylacétamide : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.CH^2C^6H^5}$

Belles aiguilles soyeuses, fusion tube étroit, 196°-197° (n. c.).

Diamides xanthylées.

Dixanthylurée : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.NH-CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}$

Dixanthylthiourée : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CS.NH-CH}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{O}$

Fines aiguilles de l'acide acétique bouillant, se décomposant en fondant, tube étroit, au-dessus ou au-dessous de 200°, suivant la vitesse de l'élévation de la température.

Xanthylphénylurée : $\mathrm{O}\left\langle\begin{matrix}\mathrm{C^6H^4}\\ \mathrm{C^6H^4}\end{matrix}\right\rangle\mathrm{CH-NH.CO.NH.C^6H^5}$

Cristaux microscopiques du toluène ou du xylène bouillants. Fusion-

décomposition en un liquide coloré au-dessus et au-dessous de 220° suivant la vitesse avec laquelle on élève la température.

Xanthylméthylurée : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.NH.CH^3$

Cristaux incolores, qui se déposent très lentement d'une solution alcoolique-acétique des deux composants. Point de fusion, 230°, variable avec la vitesse du chauffage. Le corps devient gris vers 220°. Adriani.

Xanthyldiméthylurée as. : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.N\left\langle\begin{matrix}CH^3\\ CH^3\end{matrix}\right.$

Beaux cristaux fondant à 225°. Adriani.

Xanthyldiphénylurée as. : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.N\left\langle\begin{matrix}C^6H^5\\ C^6H^5\end{matrix}\right.$

Fusion 179°-180°. Adriani.

Xanthyl.o.-tolylurée : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.NH.C^6H^4.CH^3$ 1-2.

Fusion 228°. Adriani.

Xanthyl.p.tolylurée : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.NH.C^6H^4.CH^3$ 1-4.

Adriani.

Xanthyl β-naphtylurée : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.NH.C^{10}H^7$ β

Adriani.

Dixanthylbiuret : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO.NH.CO.NH - CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$

Fusion, 260° (n. c.).

Dixanthylmalonamide : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH. - NH.CO.CH^2CO.NH - CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$

Fusion au-dessus ou au-dessous de 270°, suivant la lenteur du chauffage.

Dixanthylsuccinamide : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH-NH.CO.CH^2.CH^2.CO.NH-CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$

Commence à se décomposer, avant de fondre, aux environs de 275° (n. c.) en un liquide brun.

Imide xanthylée.

Xanthylsuccinimide : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - N\left\langle\begin{matrix}CO - CH^2\\ | \\ CO - CH^2\end{matrix}\right.$

Beaux cristaux brillants, fondant de 245° à 247° (n. c.) en liquide peu coloré.

Amido-acides xanthylés.

Xanthylcarbamate de méthyle : $O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\ C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - NH.CO^2CH^3$

Fines aiguilles, fondant vers 193° (n. c.) après léger suintement vers 191°.

Xanthylcarbamate d'éthyle : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - NH.CO^2.C^2H^5$

Fines aiguilles, fondant à 168°-169° (n. c.).

Xanthylcarbamate d'isobutyle : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - NH.CO^2.C^4H^7$

Fusion 148° (n. c.). Longues aiguilles très fines, groupées.

Xanthylcarbamate d'isoamyle : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - NH.CO^2.C^5H^{11}$

Fusion, 145° (n. c.).

Acide xanthylsuccinamique : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - NH.CO.CH^2.CH^2.CO^2H$

Cristaux incolores de l'alcool, provenant de l'action de KOH sur la xanthylsuccinamide. Fusion. 193°-196° (n. c.).

Le sel d'argent, $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH.NH.CO.CH^2.CH^2.CO^2Ag$, se présente en aiguilles soyeuses blanches, noircissant à la lumière.

Amines xanthylées.

Xanthylméthylnitramine : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - N\left\langle {CH^3 \atop NO^2} \right.$

Aiguilles fusibles à 117°5 Adriani.

Xanthyldiméthylaniline : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - \langle\;\;\rangle N(CH^3)^2$

Aiguilles incolores, fondant sur le bain de mercure à 157°-158° (n. c.), se formant aisément par contact des deux composants en milieu acétique ou acéto-alcoolique. Le chlorhydrate $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH.C^6H^4.N(CH^3)^2$, HCl. cristallisé en aiguilles est dissociable par l'eau.

Xanthylaniline : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH - C^6H^4.NH^2$.

Fusion 185°5-187°. Obtenue par Adriani dans l'action du xanthydrol sur l'aniline ou son chlorhydrate en milieu alcoolique-acétique et en traitant par HCl le composé qui suit.

Dixanthylaniline : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH.C^6H^4NH - CH\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle O$

Cristaux incolores, fondant vers 175°, engendrés en milieu alcoolique, additionné de 1/10 de son volume d'acide acétique. Adriani.

Adriani a préparé les dérivés xanthylés qui suivent :

Dixanthylméthylaniline : $O\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle CH.C^6H^4 - \underset{CH^3}{N} - CH\left\langle {C^6H^4 \atop C^6H^4} \right\rangle O$

Dixanthyltoluidine : o. m. p.

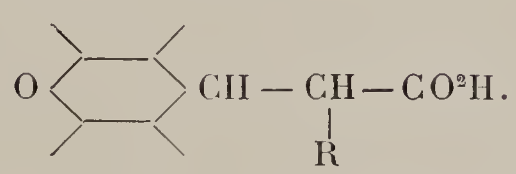
Dixanthylxylidine : CH^3 1 CH^3 3 NH^3 4

Xanthylxylidine : 1-3-2, fusion, 170°5.

Xanthylnitraniline : o. m. p.

Dixanthylnaphtylamine : α et β.

3. Action des anhydrides d'acides sur le xanthydrol ou le dinaphtopyranol. Synthèse d'acides



La singulière ressemblance du xanthydrol à un aldéhyde se manifeste également dans son attitude à l'égard des anhydrides d'acides.

Au lieu de former des éthers-sels comme tous les alcools il donne des acides.

L'anhydride acétique transforme le dérivé hydroxylé du dinaphtopyrane et du xanthane en acides, dinaphtopyryl- et xanthyl-acétiques, engendrés par élimination de 1 molécule d'eau entre l'oxydryle pyranolique et 1 atome d'hydrogène de l'anhydride

$$O\langle{}^{C^{10}H^6}_{C^{10}H^6}\rangle CH-OH + H.CH^2.CO.O.CO.CH^3 = O\langle{}^{C^{10}H^6}_{C^{10}H^6}\rangle CH.CH^2.CO^2H + CH^3.CO^2H$$

$$O\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle CH-OH + H.CH^2.CO.O.CO.CH^3 = O\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle CH-CH^2.CO^2H + CH^3.CO^2H$$

A la double soudure près, cette réaction est comparable à la synthèse des acides éthyléniques de Perkin, réalisée par l'action des anhydrides d'acides sur les aldéhydes.

$$R.CHO + H^2CH.CO.O.CO.CH^3 = R.CH:CH-CO^2H + CH^3CO^2H$$

L'acide xanthylacétique

$$O\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle CH.CH^2.CO^2H$$

se présente en belles aiguilles incolores, fondant à 155°-156° n. c. Il est sublimable, soluble dans l'alcool, un peu soluble dans l'eau chaude. Il se produit en tube scellé, accompagné d'autres substances.

L'acide xanthylisovalérique

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH - \underset{\displaystyle CH^3-CH-CH^3}{\overset{}{CH}} - CO^2H$$

fond de 147 à 150° (n. c.).

Les acides dinaphtopyrylés se forment avec plus de facilité et de meilleurs rendements que ceux dérivés du xanthyle.

4. Action des molécules méthyléniques sur le xanthydrol. — On sait que les aldéhydes possèdent la faculté de se condenser avec les acides et éthers, maloniques ou cyanacétiques, avec les β dicétones, avec les éthers β cétoniques...

En désignant par X et Y des groupements tels que CO^2H, $CO^2C^2H^5$, CN, $COCH^3$, COC^6H^5... on peut représenter ces condensations par

$$R-C\left\langle\begin{matrix}H\\O\end{matrix}\right. + H^2C\left\langle\begin{matrix}X\\Y\end{matrix}\right. = H^2O + R.CH:C\left\langle\begin{matrix}X\\Y\end{matrix}\right.$$

Cette égalité représente le résultat final des réactions bien connues de Claisen, Claisen et ses élèves, Knœvenagel, Fiquet, Haller, etc.

Elles ont enrichi la littérature d'une foule de composés éthyléniques nouveaux à fonctions : monoïque ou dioïque ; monoïque et nitrile ; monoïque et cétone ; nitrile, mono- ou dicétone.

Comme les aldéhydes, le xanthydrol peut s'unir aux molécules méthyléniques (1).

L'oxhydryle de cet alcool s'empare d'un atome d'hydrogène méthylénique pour former de l'eau, tandis que les deux radicaux monovalents qui en résultent se soudent en produisant un composé xanthyl-méthylénique saturé.

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH-OH + H-CH\left\langle\begin{matrix}X\\Y\end{matrix}\right. = H^2O + O\left\langle\begin{matrix}C^6H^5\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH-CH\left\langle\begin{matrix}X\\Y\end{matrix}\right.$$

Les alcools aromatiques de la série du di- et du triphénylméthane sont susceptibles de se comporter comme le xanthydrol à l'égard des molécules méthyléniques [R. Fosse (2), L. Baillon (3)].

(1) R. Fosse et A. Robyn, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1906, t. CXLIII, p. 239. *Bulletin Société chimique*, 1906, t. XXXV, p. 1013.

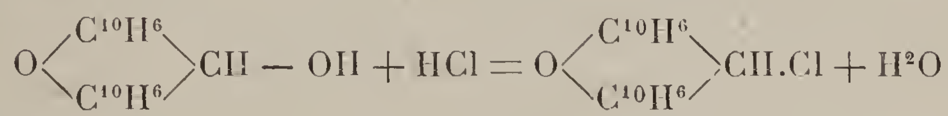
(2) R. Fosse, Alcools aromatiques. Sur le tétraméthyldiamidobenzhydrol. Remplacement de l'oxhydryle par des restes méthyléniques. *Annales de Chim. et Phys.*, 1909, 8e série, t. XVIII. p. 400-569.

(3) L. Baillon, Méthodes de synthèse d'une nouvelle série d'acides aromatiques. *Thèse* de Lille, 1909.

B. — Propriétés basiques, inorganiques et métalliques du dinaphtopyranol et du xanthydrol. Sels de pyryle.

Le dinaphtopyranol est le premier dérivé hydroxylé, organique, non azoté, connu qui jouisse des propriétés suivantes :

Au contact des acides chlorhydrique et bromhydrique aqueux, il se conduit comme une base minérale, en donnant non des *éthers*, mais de *véritables sels*, les *sels de pyryle* :



$$K - OH + HCl = K.Cl + H^2O.$$

Le chlorure et le bromure ainsi formés sont, comme des sels métalliques, précipités par l'hydrogène sulfuré à l'état de sulfure de leur solution dans l'eau acidulée.

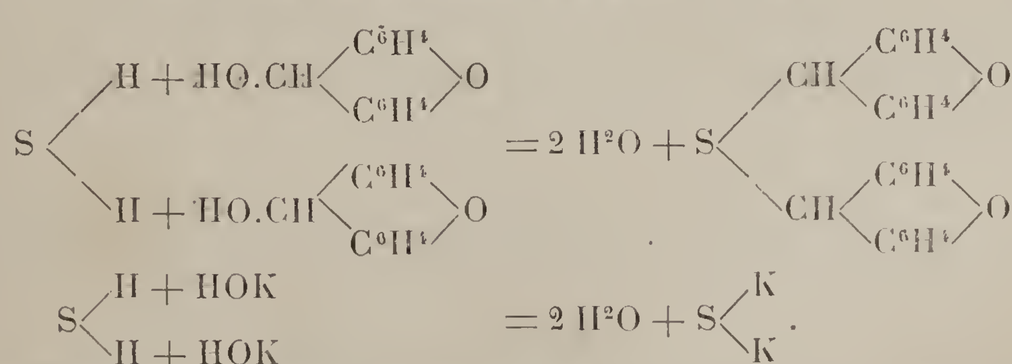
Ils produisent des réactions de double décomposition.

Ils se combinent à nombre d'haloïdes métalliques qu'ils précipitent de leur solution ou qu'ils déplacent de leurs sels doubles pour former une riche variété de combinaisons définies, cristallisées, fortement colorées.

Le dinaphtopyranol ou ses sels, dissous dans l'acide acétique, précipitent de leur solution les halogènes, pour produire des perhaloïdes de pyryle et la plupart des réactifs connus des alcaloïdes pour former des corps fortement colorés, souvent cristallisés.

1. Action de l'hydrogène sulfuré et de l'eau oxygénée sur le xanthydrol. — Le xanthydrol prend, vis-à-vis de ces réactifs, la frappante allure d'une base minérale.

Au contact du sulfure d'hydrogène il se transforme, comme la potasse, en sulfure, le sulfure de xanthyle :



Il est probable que la formation du sulfure neutre est pré-

cédée de celle du sulfhydrate de xanthyle intermédiaire, non encore isolé

$$S\left\langle{}^{H}_{H}\right. + HO.CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O = H^2O + HS - CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O.$$

Le peroxyde d'hydrogène métamorphose le xanthydrol en peroxyde, d'après une réaction semblable à celle qu'il exerce sur l'hydrate de baryte

$$O^2\left\langle{}^{H + HO.CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O}_{H + HO.CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O}\right. = 2\,H^2O + O^2\left\langle{}^{CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O}_{CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O}\right..$$

$$O^2\left\langle{}^{H}_{H}\right. + \left.{}^{HO}_{HO}\right\rangle Ba = 2\,H^2O + O^2Ba$$

Ici, encore, il est permis d'admettre la production intermédiaire d'un hydrate de peroxyde, précurseur du peroxyde.

Le sulfure de xanthyle

$$\left[O\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle CH\right]^2 S$$

fond en se décomposant, tube étroit de 149° à 153°, avec production d'un liquide rouge foncé. On l'obtient par l'action de H^2S sur le xanthydrol dissous dans l'acide acétique hydraté. L'acide chlorhydrique le dédouble en H^2S et chlorure de xanthyle instable.

Le peroxyde de xanthyle

$$\left[O\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle CH\right]^2 O^2$$

peu soluble dans l'alcool, très soluble dans le benzène, se précipite par l'introduction d'eau oxygénée dans la solution acétique de xanthydrol.

2. Réactions de doubles décompositions. — L'*acide chlorhydrique* déplace le brome du *bromure de pyryle* en produisant de l'acide bromhydrique et du chlorure de pyryle.

Ce dérivé organique bromé, non-azoté, se comporte donc comme un véritable bromure métallique vis-à-vis de l'acide chlorhydrique

$$\left[CH\left\langle{}^{C^{10}H^6}_{C^{10}H^6}\right\rangle O\right]Br + HCl = HBr + \left[CH\left\langle{}^{C^{10}H^6}_{C^{10}H^6}\right\rangle O\right]Cl$$

$$K.Br + HCl = HBr + KCl$$

Inversement, l'*acide bromhydrique* chasse le chlore du *chlo-*

rure de pyryle avec formation d'acide chlorhydrique et de bromure de pyryle.

Le chlorure de pyryle se conduit donc comme un sel métallique à l'égard de l'acide bromhydrique

$$\left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]Cl + HBr = HCl + \left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]Br$$

$$KCl + HBr = HCl + KBr.$$

On peut à volonté, comme pour les sels haloïdes de potassium, passer du chlorure de pyryle au bromure ou effectuer la transformation inverse.

Comme pour le cas des sels métalliques, ces transformations réversibles font prévoir l'existence, dans les solutions acides de sels de pyryle, d'équilibres, caractérisés par un certain partage de la base organique oxygénée entre les masses actives des acides antagonistes.

$$\left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]Cl + HBr \rightleftarrows \left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]Br + HCl$$

$$KCl + HBr \rightleftarrows KBr + HCl$$

L'*acide picrique* transforme, à froid, les sels de pyryle (chlorure, bromure, sulfate) dissous dans l'acide acétique en picrate de pyryle peu soluble et acides minéraux libres.

$$CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\Big]Cl + C^6H^2\begin{matrix}.OH \\ \diagdown (NO^2)^3\end{matrix} = HCl + \left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]O.C^6H^2.(NO^2)^3.$$

Le déplacement par l'acide picrique de l'halogène d'un composé organique dépourvu d'azote était sans exemple.

Cette curieuse réaction peut être comparée au déplacement du potassium de son chlorure par l'acide picrique.

Nous l'expliquons de la manière suivante :

Le chlorure et le bromure de pyryle, en solution dans un mélange d'acide acétique et d'eau, éprouvent une dissociation partielle en hydroxyde de pyryle et acide picrique.

$$\left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{10}H^6\diagup\end{matrix}O\right]Cl + H^2O \rightleftarrows HCl + \left[CH\begin{matrix}\diagup C^{10}H^6\diagdown \\ \diagdown C^{30}H^6\diagup\end{matrix}O\right]OH$$

L'acide picrique détruit cet équilibre en précipitant le pyranol sous forme de picrate. Il se forme une nouvelle dose d'hydra-

cide et de pyranol. Celui-ci est abattu par l'acide picrique. La succession de ces phénomènes se poursuit jusqu'à ce que la totalité ou la presque totalité de l'halogène et du radical pyryle soient séparés de leur combinaison initiale et transformés, le premier en hydracide dissous, le second en picrate insoluble.

Inversement, l'acide chlorhydrique déplace l'acide picrique du picrate avec formation de chlorure de pyryle

$$\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]O.C^6H^2.(NO^2)^3 + HCl = \left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]Cl + C^6H^2\left\langle\begin{matrix}OH\\(NO^2)^3\end{matrix}\right.$$

3. Précipitation par l'hydrogène sulfuré des sels de pyryle a l'état de sulfure. — Un courant de H^2S traversant un sel de pyryle dissous dans un acide minéral ou organique, provoque rapidement la décoloration de la liqueur et la formation d'un précipité de sulfure de pyryle

$$S\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]^2.$$

Les sels de pyryle se conduisent donc comme des sels métalliques en présence de l'hydrogène sulfuré.

Inversement les acides minéraux dilués décomposent, à chaud, le sulfure en sel de pyryle et hydrogène sulfuré

$$\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]^2 S + HCl = H^2S + 2.\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]Cl.$$

4. Aptitude des radicaux dinaphtopyryle et xanthyle a former des combinaisons insolubles ou peu solubles avec les haloïdes métalliques et métalloïdiques. — Un certain nombre de chlorures et de bromures métalliques ou métalloïdiques précipitent, à l'état de combinaisons définies, colorées, et généralement cristallisées, le xanthydrol et surtout le dinaphtopyranol, dissous dans les acides minéraux dilués ou dans un mélange d'acide acétique et d'hydracide.

Le caractère électro-positif du radical dinaphtopyryle apparaît avec une singulière netteté dans son chloroplatinate (1)

$$PtCl^4 + 2\,Cl\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right].$$

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1901, t. CXXXIII, p. 100.

Si l'on compare ce sel double au chloroplatinate de potassium

$$2\ PtCl^4 + ClK$$

on voit que l'atome métallique du potassium et le radical organique, sans azote, *dinaphtopyryle*, jouent identiquement le même rôle dans les deux formules.

En collaboration avec Lesage (1), nous avons préparé des sels doubles pyrylhalogénés des métaux ou métalloïdes qui suivent :

Platine,	Cuivre,	Fer,	Étain,
Palladium,	Plomb,	Cobalt,	Bismuth,
Or,	Uranium,	Cadmium,	Antimoine,
Mercure,	Manganèse,	Zinc,	Arsenic.

Lesage (2) a décrit un nombre important de nouvelles combinaisons pyrylées halogénées avec les métaux et les métalloïdes.

Voici les sels doubles connus jusqu'ici qui dérivent du xanthydrol seulement :

Platine.

Chloroplatinate de xanthyle : $PtCl^4 + 2\ Cl\left[CH\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle O\right]$

Poudre orangée (F. et L.).

Bromoplatinate de xanthyle : $PtBr^4 + 2\ Br\left[CH\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle O\right]$

Précipité jaune orangé (F. et L.).

Or.

Chloroaurate de xanthyle : $AuCl^3 + Cl\left[CH\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle O\right]$

Cristaux jaunes microscopiques (F. et L.).

Bromoaurate de xanthyle : $AuBr^3 + Br\left[CH\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle O\right]$

Petits cristaux rouge brique (F. et L.).

Cuivre.

Bromure de cuivre et de xanthyle : $CuBr^2 + 2\ Br\left[CH\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\rangle O\right]$

Petits cristaux violet sombre. (F. et L.).

(1) R. Fosse et L. Lesage, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1905, t. CXL, p. 1402; 1905, t. CXLI, p. 625; 1906, t. CXLII, p. 1543.

(2) L. Lesage, Contribution à l'étude des sels de pyryle. *Thèse de Lille*, 1912.

Mercure.

Chlorure de mercure et de xanthyle : $\mathrm{HgCl^2 + Cl\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux jaune safran (F. et L.).

Bromure de mercure et de xanthyle : $\mathrm{3\,HgBr^2 + 4\,Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux jaune d'or (F. et L.).

Plomb.

Bromure de plomb et de xanthyle : $\mathrm{2\,Pb.Br^2 + Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Petits cristaux marron clair (F. et L.).

Uranium.

Chlorure d'uranyle et de xanthyle : $\mathrm{Uo^2Cl^2 + 2\,Cl\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux prismatiques jaune d'or (F. et L.).

Bromure d'uranyle et de xanthyle : $\mathrm{UO^2Br^2 + 2\,Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux jaune d'or (F. et L.).

Fer.

Chlorure de fer et de xanthyle : $\mathrm{FeCl^3 + Cl\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

(A. Werner.)

Bromure de fer et de xanthyle : $\mathrm{FeBr^3 + Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux microscopiques rouge vif (F. et L.).

Zinc.

Bromure de zinc et de xanthyle : $\mathrm{ZnBr^2 + 2\,Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Cristaux jaune orangé (F. et L.).

Cadmium.

Bromure de cadmium et de xanthyle : $\mathrm{CdBr^2 + 2\,Br\left[CH{<}\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}{>}O\right]}$

Petits cristaux jaunes (F. et L.).

5. Action des réactifs alcaloïdiques sur le dinaphtopyranol et le xanthydrol. — On provoque la formation de précipités colorés, souvent cristallisés, en traitant les solutions de sels de dinaphtopyryle dans les acides minéraux ou, suivant le cas, de

dinaphtopyranol dans l'acide acétique par les réactifs alcaloïdiques qui suivent :

Acide picrique,
Tanin,
Chlore,
Brome,
Iode,
Acide perchlorique,
Ferrocyanure de potassium,
Ferricyanure de potassium,
Acide molybdique,
Acide nitroprussique,
Acide phosphotungstique,
Acide phosphomolybdique,
Acide silicotungstique,
Acide vanadique.

Le xanthydrol ne précipite que quelques-uns de ces réactifs. Il abat en solution acétochlorhydrique :

Le chlore,
Le brome,
L'iode,
L'acide iodhydrique,

et en solution acétique :

L'acide silicotungstique,
L'acide phosphotungstique.

Il produit ainsi des silico et phosphotungstates de xanthyle, jaunes, très peu solubles.

C. — Propriétés oxydantes des sels de pyryle et des pyranols.

ACTION DE L'ALCOOL. — Les sels de pyryle subissent, en présence de ce réactif, une curieuse transformation : ils se dédoublent par réduction en carbure pyranique et hydracide

$$\left[CH{<}\begin{matrix}C^{10}H^{5}\\C^{10}H^{6}\end{matrix}{>}O\right]Cl + H^2 = HCl + CH^3{<}\begin{matrix}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{matrix}{>}O$$

L'hydrogène nécessaire est fourni par l'alcool qui passe à l'état d'aldéhyde

$$C^2H^4O = H^2 + C^2H^4O$$

Cette réaction représentée par l'égalité

$$\left[CH{<}\begin{matrix}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{matrix}{>}O\right]Cl + C^2H^6O = HCl + C^2H^4O + CH^2{<}\begin{matrix}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{matrix}{>}O\ ,$$

peut être comparée, abstraction faite de l'azote, à celle des sels de diazonium

$$C^6H^5N^2Cl + C^2H^6O = HCl + C^2H^4O + C^6H^6 + N^2.$$

Le xanthydrol, traité à chaud par l'alcool chlorhydrique, donne naissance également au xanthane et à de l'éthanal

$$\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O\right]Cl + C^2H^6O = HCl + C^2H^4O + CH^2\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O,$$

Nous avons pu, par cette méthode, passer de plusieurs pyranols aux pyranes correspondants (R. Fosse et A. Robyn) (1).

Pour réaliser l'oxydation de l'alcool, il n'est point nécessaire de faire appel à l'acide chlorhydrique.

En présence d'alcool, le dinaphtopyranol, dissous dans l'acide acétique, se réduit à l'état de dinaphtopyrane avec formation d'éthanal et d'eau

$$\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O\right]OH + C^2H^6O = H^2O + C^2H^4O + CH^2\left\langle\begin{matrix}C^{10}H^6\\C^{10}H^6\end{matrix}\right\rangle O$$

La réaction est ici comparable à l'oxydation de l'alcool par les quinones

$$C^6H^4\left\langle\begin{matrix}O\\O\end{matrix}\right. + C^2H^6O = C^2H^4O + C^6H^4\left\langle\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}\right.$$

Action des iodures métalliques et de l'acide iodhydrique. — Les sels de dinaphtopyryle et le dinaphtopyranol en milieu acétique, déplacent l'iode des iodures et de l'acide iodhydrique.

Le xanthydrol en milieu acétique ne produit pas de précipité avec les iodures métalliques, mais il décompose à froid l'acide iodhydrique libre en formant un dérivé iodé et un produit de réduction.

Cette attitude du xanthydrol à l'égard des iodures, nous a permis d'instituer une méthode de dosage de l'urée dans le sérum sanguin, préalablement désalbuminé par le réactif iodomercurique de Tanret.

Action oxydante et réductrice du xanthydrol sur lui-même. — La solution acétique de ce corps produit peu à peu, même à froid, du xanthane et de la xanthone, formés d'après l'égalité

$$2\ CHOH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O = CH^2\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O + CO\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

Dans des conditions expérimentales différentes, cet alcool se

(1) R. Fosse et A. Robyn, *Bull. Soc. chim.*, t. XXXI, 1904, p. 257-267.

comporte donc comme les aldéhydes qui, en présence des alcalis, s'oxydent et se réduisent simultanément pour donner l'acide et l'alcool correspondants (Cannizzaro).

$$2\ C^6H^5.CHO + H^2O = C^6H^5CO^2H + C^6H^5.CH^2OH$$

CHAPITRE III

PRÉPARATION DU XANTHYDROL ET CONDITIONS DE SON EMPLOI

Ce corps est apparu dans le commerce, à un prix élevé, peu après l'époque où nous avons fait connaître son application au dosage de l'urée dans le sang. La plupart des échantillons que nous y avons rencontrés étaient assez impurs, ils se dissolvaient, plus ou moins incomplètement, dans l'alcool, par suite de leur teneur plus ou moins grande en oxyde de xanthyle.

1. Préparation du xanthydrol pur. — En réduisant la xanthone par l'amalgame de sodium, Richter (1) n'a pas obtenu le xanthydrol correspondant, mais le xanthane (improprement dénommé xanthène)

$$CH^2\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O,$$

accompagné d'une substance fondant à 200° qu'il considérait comme formée de molécules égales de xanthone et de xanthane

$$CO\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O + CH^2\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O.$$

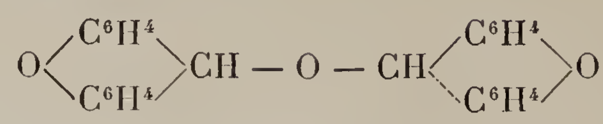
Il chauffait, au bain-marie bouillant, la xanthone en solution dans l'alcool à 45 p. 100, pendant 6 à 8 heures, avec de l'amalgame de sodium à 3 p. 100, qu'il introduisait peu à peu jusqu'à cessation de dégagement d'hydrogène.

R. Meyer et Saul (2) ont montré que le corps auquel Richter attribuait la formule

$$CO\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O + CH^2\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

(1) Richter, *Journal für prak. Chem.*, 1883, t. XXVIII, p. 290.
(2) R. Meyer et Saul, *Berichte*, 1893, t. XXVI, p. 1276.

était en réalité l'éther oxyde



correspondant au xanthydrol, alors inconnu.

R. Meyer et Saul ont réussi à préparer cet hydrol de la xanthone, en traitant celle-ci en solution alcoolique, au bain-marie, *durant un jour*, par la soude et la poudre de zinc. Ils opéraient sur 10 grammes de xanthone, 40 grammes de soude et 400 cent. cubes d'alcool, c'est-à-dire 4 litres de ce solvant pour 100 grammes de xanthone.

Nous nous procurons facilement le xanthydrol *pur*, en agitant avec de l'amalgame de sodium la xanthone *pure*, pulvérisée en suspension dans l'alcool.

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Xanthone pure, finement pulvérisée et tamisée.	100 grammes.
Alcool à 95°	700 cent. cubes.
Sodium	36 grammes.
Mercure	3.000 gr. ou 220 cent. cubes.

Mode opératoire. — A l'aide d'une tige de fer recourbée, on plonge, par petites portions, le sodium, privé de toute trace de naphte, à surface brillante, dans le mercure parfaitement net, très légèrement chaud, contenu dans une petite marmite en fonte, dont le couvercle porte une ouverture circulaire.

Pendant qu'il est encore liquide (110° à 100°), l'alliage est coulé rapidement dans un flacon, muni d'une fermeture à l'émeri (1), de 2 litres, sortant de l'étuve à 110°.

On plonge un thermomètre dans l'amalgame. Dès qu'il marque 50°, on ajoute la xanthone, l'alcool, bouche et agite vigoureusement. La température du liquide s'élève bientôt aux environs de 50 à 55°; il se colore en bleu; la xanthone disparaît progressivement.

En débouchant le vase, de temps à autre, on constate d'abord une compression, puis une dépression. La coloration s'affaiblit peu à peu.

(1) L'emploi d'un bouchon de liège a pour effet de communiquer à la liqueur alcaline une teinte jaune, plus ou moins accentuée.

La réduction est terminée lorsque la solution, encore chaude, n'acquiert plus la moindre teinte, bleue ou jaune, au contact du mercure fortement brassé, contenant un excès d'amalgame.

Durée de cette partie de l'expérience : 15 minutes environ.

Si une portion de liqueur filtrée possédait la moindre teinte, on placerait le vase quelques minutes dans un bain d'eau, maintenu vers 60°, puis on l'agiterait, hors du bain, jusqu'à obtention d'un filtrat *incolore*.

Précipitation et dessiccation du xanthydrol. — On filtre sur papier Chardin, lave vase et filtre avec de l'alcool.

La liqueur additionnée, peu à peu, de plusieurs fois son volume d'eau, dépose le xanthydrol cristallisé, qu'on essore, lave à l'eau et sèche dans le vide sur chlorure de calcium, jusqu'à poids constant.

Caractères du xanthydrol ainsi préparé. — Matière blanche, légère, très volumineuse, inodore.

7 cent. cubes de méthanol à 99°5 ou 10 cent. cubes d'alcool éthylique absolu du commerce dissolvent 1 gramme de xanthydrol à la température ordinaire, par simple agitation. (Ces chiffres ne représentent nullement le coefficient de solubilité.)

2. Conditions de la condensation. — *Choix de l'acide acétique comme agent de condensation.*

La condensation du xanthydrol et de l'urée a lieu en milieu acide.

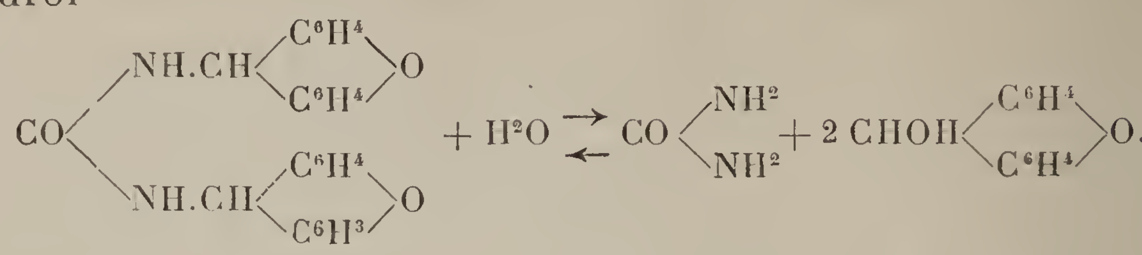
Une solution alcoolique neutre de ces deux corps demeure limpide pendant plusieurs semaines; en quelques minutes, elle se trouble, au contraire, par suite de la formation de l'urée dixanthylée, si on lui ajoute une ou plusieurs fois son volume d'acide acétique.

On ne peut guère songer à utiliser avec avantage, comme agents de condensation, les acides minéraux, qui provoquent une altération trop rapide du xanthydrol et exercent, en outre, une action destructive, plus ou moins marquée, aussi bien sur l'urée que sur l'uréine.

L'acide acétique, dans les conditions de nos expériences, ne manifeste pas d'action hydrolytique *sensible* sur l'urée et sur l'uréine.

Celle-ci peut subir, cependant, l'hydrolyse par l'acide acé-

tique, mais d'une manière très lente et très limitée, surtout à la température ordinaire et en présence d'un excès de xanthydrol



Quant au xanthydrol, sa destruction en xanthone et xanthane commence dès l'instant de son entrée dans le milieu acétique

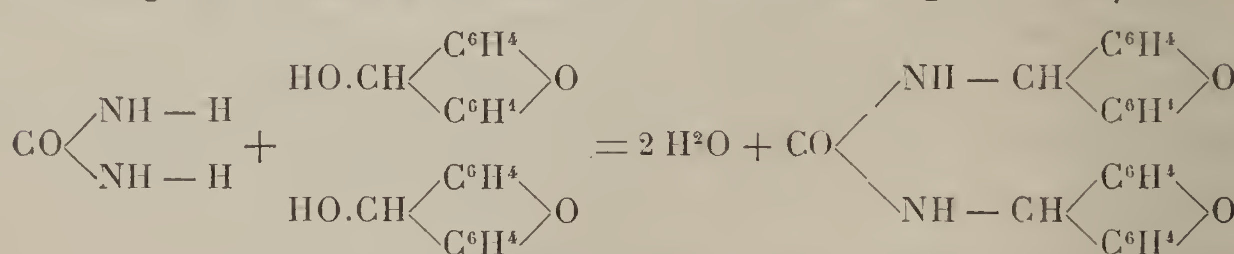


Mais la vitesse de cette réaction étant beaucoup plus lente que la vitesse de condensation du xanthydrol et de l'urée, l'emploi de l'acide acétique convient pour produire l'uréine xanthylée.

Nous l'utilisons non seulement dans ce but, mais aussi pour participer à la dissolution du xanthydrol et de ses produits de décomposition.

Précipitation rapide de l'uréine. — Dans une solution concentrée de xanthydrol dans l'acide acétique cristallisable, introduit-on quelques gouttes de liqueur aqueuse d'urée ou d'urine : un précipité d'uréine apparaît immédiatement.

La condensation paraît être instantanée; l'élimination d'eau entre composants est si prompte qu'elle rappelle, *jusqu'à un certain point*, une réaction de chimie minérale à vitesse infiniment grande, la neutralisation des acides par les bases.



$$Cl - H + HO.K = H^2O + Cl.K.$$

Cette rapidité de combinaison peut être intéressante au point de vue théorique, elle l'est moins au point de vue pratique de l'identification et du dosage de l'urée.

L'uréine, ainsi formée, est impure, elle englobe des parcelles de xanthydrol que des lavages même prolongés sont impuissants à lui enlever, de sorte que son poids devient légèrement supérieur à celui indiqué par la théorie, quand on opère avec

une liqueur d'urée de titre connu; elle ne paraît pas cristallisée même aux plus forts grossissements du microscope; enfin, elle est si ténue qu'elle traverse les filtres à sulfate de baryte et que, pour la recueillir sans pertes, il faut alors avoir recours aux filtres de porcelaine.

Précipitation de l'uréine à l'état cristallisé. — Le précipité se dépose, cristallisé et presque pur à l'analyse, si l'on provoque la condensation moins précipitamment, dans un milieu de plus grande dilution.

Le mode opératoire adopté consiste à introduire, par portions ou en totalité, une certaine quantité de solution alcoolique de xanthydrol dans la liqueur aqueuse d'urée, convenablement étendue d'acide acétique. Les proportions de xanthydrol, d'alcool, d'acide acétique et d'eau ont été prises de telle manière que leur mélange, sans urée, conserve une limpidité parfaite durant 12 heures au moins.

Dans ces conditions, les produits moins solubles, provenant de l'altération du xanthydrol, la xanthane et le xanthone demeurent en solution.

Mode d'emploi du xanthydrol. — La théorie pour précipiter 1 gramme d'urée exige 6 gr. 53 de xanthydrol. La quantité *minimum* de réactif qui était de 15 grammes dans nos premières expériences, a été abaissée à 10 grammes.

Nous avons d'abord utilisé une solution à 1/20 dans l'alcool à 95°, puis à 1/10 dans l'alcool absolu et finalement à la même concentration 1/10 dans le méthanol (1 gramme de xanthydrol pour 10 cent. cubes de CH^3OH à 99°5).

Ces solutions peuvent être préparées à l'avance. Cependant elles s'altèrent, surtout à la chaleur et au soleil. Lorsqu'elles sont destinées à des dosages, il est préférable d'éviter de les conserver au delà de deux à trois semaines.

Le xanthydrol, non dissous, n'est même pas à l'abri de toute transformation, s'il n'est parfaitement pur. Il se métamorphose alors spontanément, surtout pendant l'été, sous l'influence d'une trace d'impureté, en oxyde de xanthyle, insoluble ou très peu soluble dans l'alcool froid

$$2\,CHOH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O = H^2O + O\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O\right]^2.$$

Le produit reste encore utilisable surtout pour l'analyse qualitative : il suffit de le triturer avec de l'acide acétique jusqu'à dissolution. La solution à 1/10, ainsi préparée *à froid et seulement au moment de son emploi*, peut remplacer la solution alcoolique.

Au contact de l'acide acétique, l'oxyde de xanthyle s'hydrate et repasse à l'état de xanthydrol

$$O\left[CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O\right]^2 + H^2O = 2\,CHOH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

Si l'acide acétique, ainsi employé au traitement de l'oxyde de xanthyle, était impur et contenait, comme il arrive parfois, de petites quantités d'un acide minéral libre, la solution, teintée en rouge au lieu d'être incolore, se troublerait peu après sa préparation et abandonnerait de l'oxyde de xanthyle

$$CHOH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O + HCl = H^2O + Cl.CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

$$CHOH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O + CHCl\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O = HCl + O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^5H^4\end{matrix}\right\rangle CH - O - CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

3. Substances a éliminer de la solution d'urée avant d'opérer la précipitation. — Des nombreux corps que nous avons combinés au xanthydrol très peu le précipitent de ses solutions dans les conditions de nos expériences d'identification et de dosage de l'urée.

Parfois la combinaison a lieu; mais, soluble ou dissociable, elle ne se précipite point; parfois elle n'apparaît que très lentement, longtemps après que la totalité de l'urée a été précipitée; le plus souvent, enfin, elle ne trouve point dans le milieu réactionnel les conditions favorables à sa formation.

Voici les corps qu'il convient de neutraliser, de transformer ou d'éliminer, soit parce qu'ils produiraient des précipités, soit parce qu'ils altéreraient trop rapidement le réactif.

1° *Acides à neutraliser par les alcalis* : Fluorhydrique, chlorhydrique, bromhydrique, iodhydrique, sulfurique, azotique, phosphorique, phosphoreux, phosphotungstique, phosphomolybdique, etc.

2° *Substances à transformer* : Haloïdes de platine, d'or, de cuivre, de mercure, d'uranyle, de fer, de zinc, de cadmium.

Plusieurs de ces sels ne précipitent le xanthydrol que lorsqu'ils se présentent à une certaine concentration et accompagnés d'une dose plus ou moins élevée d'acides chlorhydrique ou bromhydrique. Il en résulte que ce cas se ramène partiellement au précédent. Toute chance de former un précipité xanthylmétallique sera écartée si on fait passer à l'état d'haloïde alcalin l'halogène libre de l'hydracide et l'halogène combiné au métal. Il suffira donc de rendre la liqueur nettement alcaline par la potasse, puis de la traiter par l'acide acétique et, enfin, par le xanthydrol.

3° *Substances à éliminer ou à détruire* : Halogènes; acides hypochloreux, hypobromeux et leurs sels.

Eau oxygénée; peroxydes; persels.

Hydrogène sulfuré.

Thiourée; phénylthiourée; phénylurée

Diméthylaniline.

Pyrrol; indol; scatol.

Néglige-t-on d'effectuer l'opération préliminaire que nous venons d'indiquer; la solution à examiner contient-elle une ou plusieurs substances, précipitant le xanthydrol, signalées ou non dans l'énumération précédente; alors la diagnose de l'urée devient un peu moins aisée et rapide, mais elle est toujours possible.

Il suffit d'appliquer aux corps précipités les procédés de l'analyse immédiate et d'identifier ensuite l'uréine par l'analyse quantitative, ainsi que par ses caractères spécifiques donnés plus loin.

L'alcool bouillant permet d'extraire des traces d'uréine mêlées à des quantités considérables de matières étrangères.

4. Influence, sur la vitesse de formation de l'uréine, de la présence de substances sans affinité pour le xanthydrol. — L'ammoniaque, les bases alcalines ainsi que d'autres corps minéraux ou organiques, en solution acétique, ralentissent d'une manière plus ou moins nette la condensation du xanthydrol et de l'urée.

Dans un milieu donné, d'où l'urée est complètement précipitable après 1 heure de condensation, introduit-on de l'ammoniaque, on constate que le poids d'urée xanthylée recueillie après une heure est très sensiblement inférieur à celui produit

par le milieu sans ammoniaque. Il faut alors plusieurs heures pour que la réaction soit terminée.

5. Action du xanthydrol sur les composés biochimiques. — Cet alcool dont nous avons montré l'incomparable activité chimique ne précipite de leur solution acétique, dans les conditions expérimentales de notre méthode de dosage, aucun des corps qui suivent :

1° Ammoniaque ; méthyl, diméthyl et triméthylamine.

2° Guanidine; créatine; créatinine.

3° Arginine, d'après Hugounenq et Morel.

4° Glycocolle; acide hippurique; alanine; leucine; asparagine; acide aspartique ; acide glutamique ; tyrosine ; tryptophane; acide urique; xanthine.

5° Albuminoïdes de l'œuf et du sang; gélatine; fibroïne; peptone de Witte.

6° Glycérine ; érythrite; mannite ; glucose ; lévulose ; saccharose; dextrine.

7° Acides : formique, acétique, propionique, butyriques, valérianiques.

8° Acides-alcools : glycolique, lactique, citrique, tartriques.

9° Acides bibasiques : oxalique, succinique.

10° Matériaux de l'urine humaine et du sérum sanguin, autres que l'urée, préalablement détruite par l'uréase du Soja.

6. Action du xanthydrol sur le pyrrol, l'indol et le scatol. — Le xanthydrol est précipité par ces trois substances biochimiques azotées en produisant des composés xanthylés dont nous avons établi la formule brute pour les deux d'entre eux qui suivent :

Dixanthylpyrrol

$$C^4H^3N\left[CH\begin{matrix}\diagup C^6H^4 \diagdown \\ \diagdown C^6H^4 \diagup\end{matrix}O\right]^2$$

Cristaux incolores (du benzène), devenant opaques à l'étuve, commençant à se colorer en tube étroit vers 170° pour fondre avec décomposition de 195° à 200°, en un liquide rouge violacé.

Dixanthylindol

$$C^8H^5N\left[CH\begin{matrix}\diagup C^6H^4 \diagdown \\ \diagdown C^6H^5 \diagup\end{matrix}O\right]^2$$

se colore à partir de 190° et fond lentement en se décomposant depuis 205° jusqu'à 214° pour donner un liquide rouge foncé.

CHAPITRE IV

TECHNIQUE DE LA PRÉCIPITATION ET DE L'IDENTIFICATION DE L'URÉE AU MOYEN DU XANTHYDROL

Si l'on veut se borner à précipiter l'urée par le xanthydrol, la technique est des plus simples, il suffit de placer les deux corps en milieu acétique.

Désire-t-on obtenir, en même temps qu'une précipitation sensiblement intégrale, un produit de condensation pur ou à un degré de pureté connu, il faut alors opérer dans des conditions données, déterminées à l'avance.

La composition des milieux de précipitation doit varier évidemment avec la richesse des solutions en urée.

Nous considérerons trois catégories de solutions, correspondant à des concentrations en urée :

Supérieures à. . .	1g »	par litre	ou à	$\frac{1}{1.000}$
Supérieures à. . .	0,05	—	—	$\frac{1}{20.000}$
Et inférieures à. .	1 »	—		
Inférieures à . . .	0,05	—	—	$\frac{1}{20.000}$

Dans les deux premiers cas, les proportions de réactifs, adoptés pour l'analyse qualitative, sont les mêmes que celles que nous utiliserons plus loin pour l'analyse quantitative.

1. Précipitation de l'urée, prise a des concentrations supérieures a 1 gramme par litre (1/1.000).

Composition du milieu.

Solution aqueuse d'urée . . .	1	cent. cube.	20	cent. cubes.
Acide acétique cristallisable .	3,5	—	70	—
Solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique . .	0,5	—	10	—
	5	cent. cubes	100	cent. cubes.

Mode opératoire. — Le mélange de solution d'urée et d'acide acétique reçoit le xanthydrol méthylique soit en une fois, soit en plusieurs, cinq par exemple à 10 minutes d'intervalle.

La bouillie cristalline est essorée 1 heure après la dernière addition de réactif. L'uréine est lavée à l'alcool et séchée.

Application de la méthode à des solutions de diverses concentrations, Aspect microscopique du précipité.

Cas d'une liqueur contenant 5 *grammes d'urée par litre* :

a) Dans 1 cent. cube de liqueur, correspondant par conséquent à 5 milligrammes (0 gr. 005) d'urée, on introduit succes-

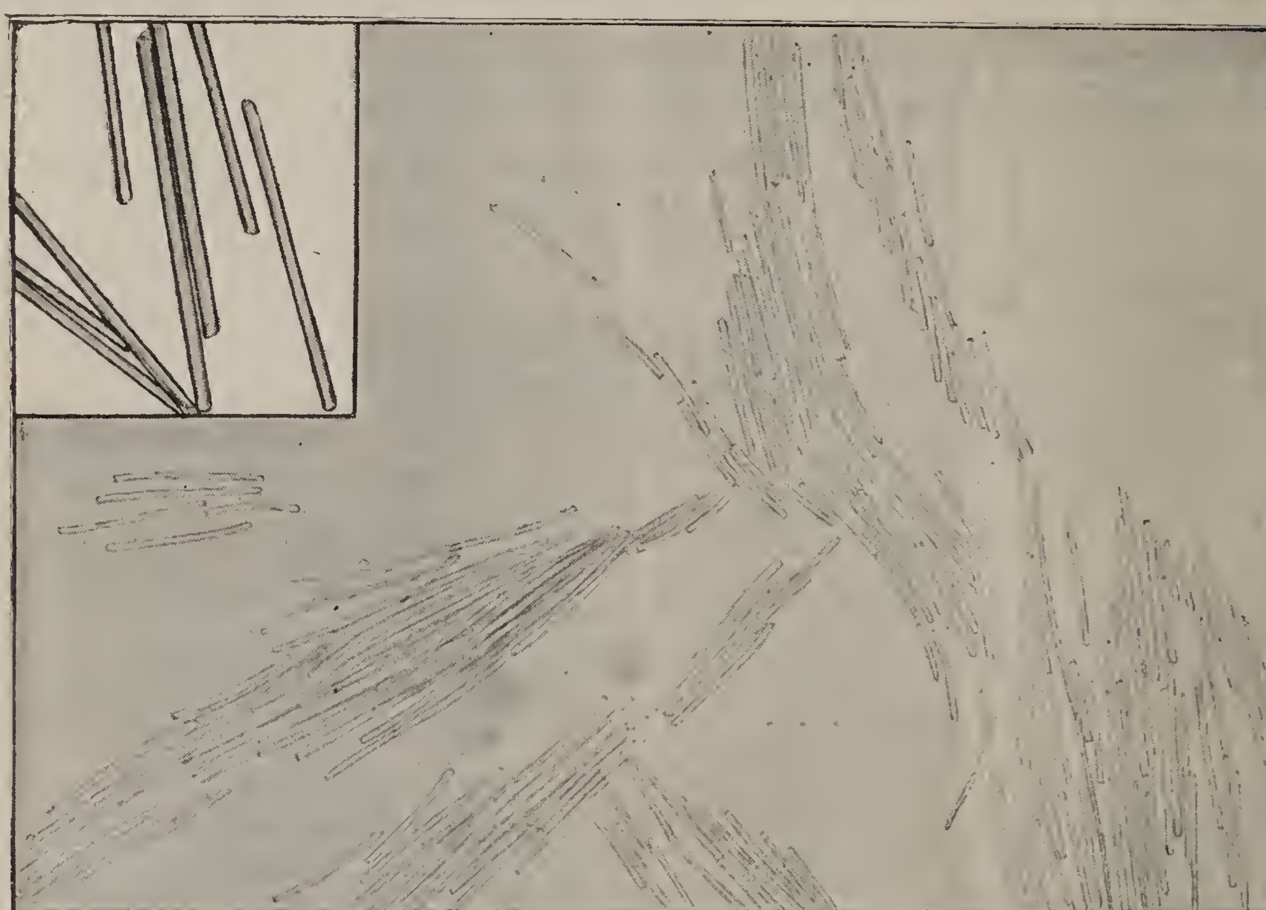


Fig. 1.

sivement 3 cent. cubes 5 d'acide acétique et 0 cent. cube 5 de xanthydrol méthylique. Presque aussitôt le mélange se trouble, prend l'aspect du lait d'abord, puis d'une bouillie blanche, formée de petites aiguilles, brillantes, visibles à l'œil nu.

Une goutte, examinée au microscope, apparaît peuplée d'aiguilles groupées, parallèlement, en faisceaux, en pinceaux ou en gerbes.

Au fort grossissement et en lumière artificielle, on peut constater qu'elles sont constituées par de longs filaments étroits, éclairés longitudinalement et limités par des bords parallèles sombres (fig. 1).

b) Même expérience, ne différant de la précédente que par l'introduction du xanthydrol en cinq portions égales à 10 minutes d'intervalle. Une goutte de la bouillie cristalline, examinée à un fort grossissement, en lumière artificielle, montre des filaments un peu plus larges que les précédents, à bords parallèles et groupés le plus souvent parallèlement à eux-mêmes.

c) Si au mélange précédent de liqueur d'urée et d'acide

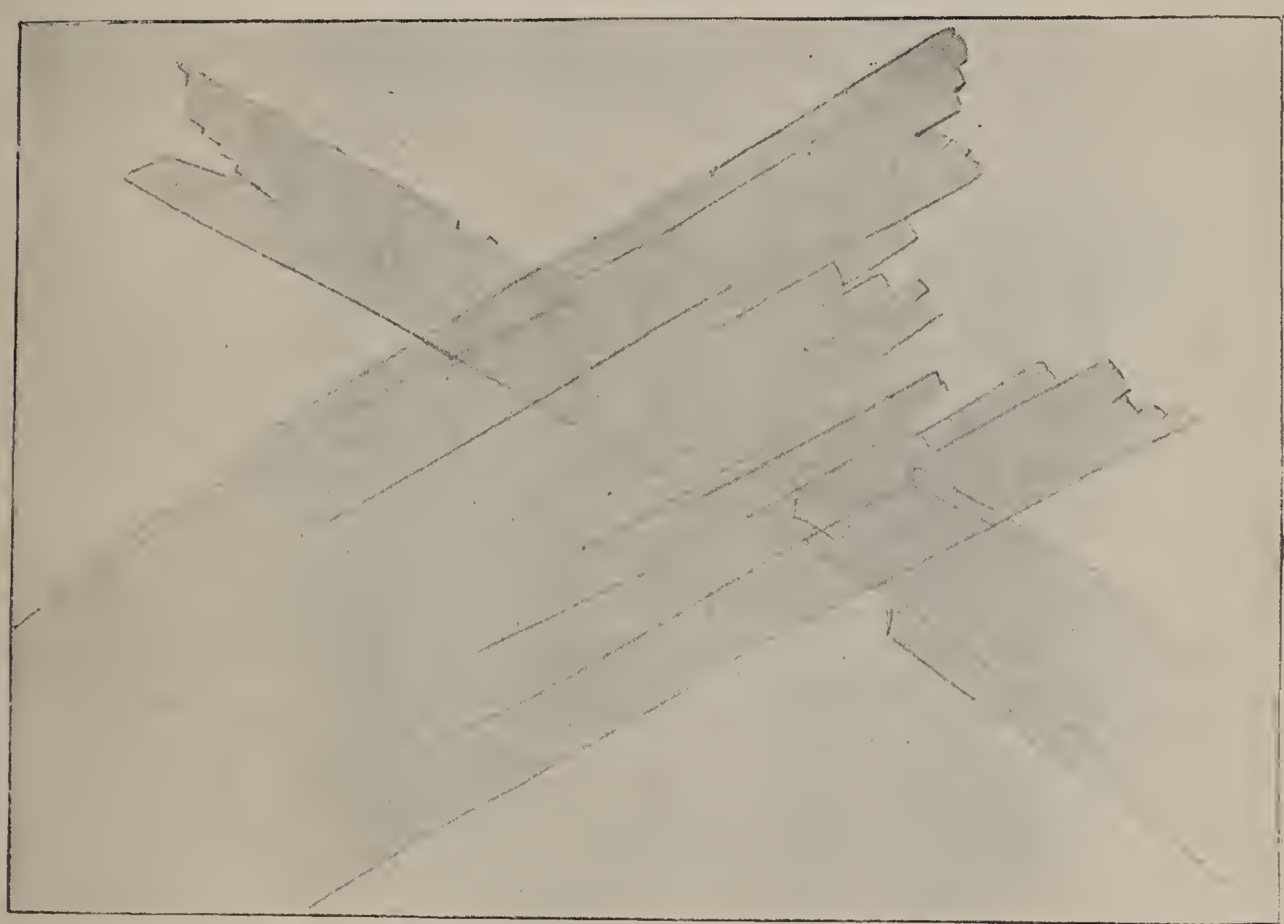


Fig. 2.

acétique on n'ajoute qu'une très petite quantité de xanthydrol, insuffisante pour la dose d'urée en expérience (0 cent. cube 05 par exemple de la solution méthylique), le précipité apparaît bien plus lentement et en très faible proportion. Les cristaux sont formés, au microscope, de filaments beaucoup plus larges que les précédents, limités par deux bords parallèles, rassemblés parallèlement à eux-mêmes (fig. 2).

Cas d'une liqueur contenant 1 *gramme d'urée par litre* :

A 1 cent. cube de liqueur, correspondant à 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée, on ajoute 3 cent. cubes 5 d'acide acétique et 0 cent. cube 5 de xanthydrol méthylique.

Dans une goutte du produit on voit flotter au microscope une multitude de petits îlots, formés de filaments groupés en faisceaux, gerbes, épis ou concentriquement autour d'un point, dans toutes les directions, à côté d'assemblages des mêmes filaments parallèlement à eux-mêmes.

Cas d'une liqueur contenant 0 *gr.* 5 *d'urée par litre* :

On opère sur 1 cent. cube, c'est-à-dire sur un demi-milligramme (0 gr. 0005) d'urée. Les petits cristaux brillants qui se



Fig. 3.

séparent sont formés au microscope de larges filaments groupés, offrant souvent l'aspect de tables, présentant à leur surface des inclusions nombreuses de filaments plus étroits (fig. 3).

Cas d'une liqueur contenant 0 *gr.* 25 *d'urée par litre* :

On opère sur 1 cent. cube, c'est-à-dire sur deux dixièmes et demi de milligramme (0 gr. 00025) d'urée. Même aspect que celui du précédent précipité.

En répétant la même expérience sur une liqueur contenant

0 gr. 10 d'urée par litre, on n'obtient de précipité que le lendemain et à l'état de traces.

Quoique ce mode opératoire permette, ainsi qu'on vient de le voir, de précipiter l'urée à des dilutions bien supérieures au millième, nous préférons, dans le cas de telles concentrations, faire usage d'un milieu moins riche en xanthydrol et en acide acétique.

2. Précipitation de l'urée, prise a des concentrations supérieures a 0 gr. 05 par litre (1/20.000) et inférieures a 1 gr. par litre.

Composition du milieu.

Solution d'urée	1 cent. cube.	33 c.c. 3
Acide acétique cristallisable .	2 —	66 c.c. 6
Solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique . .	$3 \times \frac{1}{20}$ c.c. ou $3 \times 0,05$	5 c.c. »
		104 c.c. 9

Mode opératoire. — La liqueur d'urée est pourvue du double de son volume d'acide acétique, puis de xanthydrol méthylique, un vingtième du volume total ou 0 cent. cube 05 par centimètre cube de mélange.

Application de la méthode

à des solutions de diverses concentrations.

Cas d'une liqueur contenant 1 *gramme d'urée par litre* :

a) Un cent. cube correspondant à 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée reçoit 2 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 15 de xanthydrol méthylique à l'aide d'une pipette graduée au 1/100 de cent. cube. L'examen microscopique du précipité montre qu'il est constitué par des filaments étroits, groupés en gerbes et en faisceaux.

b) Même expérience en introduisant le réactif par portion de 0 cent. cube 05 à 10 minutes d'intervalle. Les filaments apparaissent groupés en faisceaux, gerbes, buissons et concentriquement autour d'un point.

Cas d'une liqueur contenant 0 *gr.* 5 *d'urée par litre* :

Aspect des cristaux au microscope : filaments groupés en rameaux et autour d'un point.

Cas d'une liqueur contenant 0 *gr.* 10 *d'urée par litre* :

Aspect du précipité au microscope : petites agglomérations formées de filaments groupés autour de points communs.

Cas d'une liqueur contenant 0 *gr.* 05 *d'urée par litre* :

1 cent. cube de liqueur correspondant à 5 centièmes de milligramme (0 gr. 00005) d'urée reçoit 2 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 15 de xanthydrol. Après 8 à 10 minutes, le mélange laisse apparaître une trace de petits cristaux brillants. Nous sommes au voisinage de la limite de précipitation de l'urée dans les conditions de l'expérience. Cette limite peut être aisément franchie, si l'on met en œuvre des proportions moindres d'acide acétique.

3. Précipitation de l'urée prise a des concentrations inférieures a 0 gr. 05 par litre (1/20.000). — *Milieu acétique à* 50 *p.* 100 *environ.* — La méthode, d'une très grande sensibilité, *permet de reconnaître aisément un centième de milligramme* (0 *gr.* 00001) *d'urée, emprunté à une liqueur titrée au cent millième* 1/100.000.

Composition du milieu.

Solution aqueuse d'urée.	1 cent. cube.	50 c. c.
Acide acétique cristallisable. . . .	1 cent. cube.	50 c. c.
Solution méthylique de xanthydrol.	$2 \times \frac{1}{25}$ ou $2 \times 0{,}04$	4 c. c.
		104 c. c.

Mode opératoire. — La solution d'urée, étendue de son volume d'acide acétique, reçoit du xanthydrol méthylique 1/25 du volume total ou 0 cent. cube 04 pour 1 cent. cube du mélange.

Précipitation et caractérisation de l'urée prise à la concentration de 1 *centigramme par litre* 1/100.000. — A 10 cent. cubes d'une telle solution on ajoute 10 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 8 de xanthydrol méthylique, à l'aide d'une pipette au 1/100 de cent. cube.

Après 5 à 6 minutes environ d'abandon à la température ordinaire, la liqueur, limpide au début, se trouble, puis, peu après (2-3 minutes), produit de légers flocons en suspension dans le liquide. Ceux-ci augmentent et se réunissent en petits îlots à contours irréguliers.

Après une heure de condensation, l'un d'entre eux, examiné au plus fort grossissement du microscope, en lumière artifi-

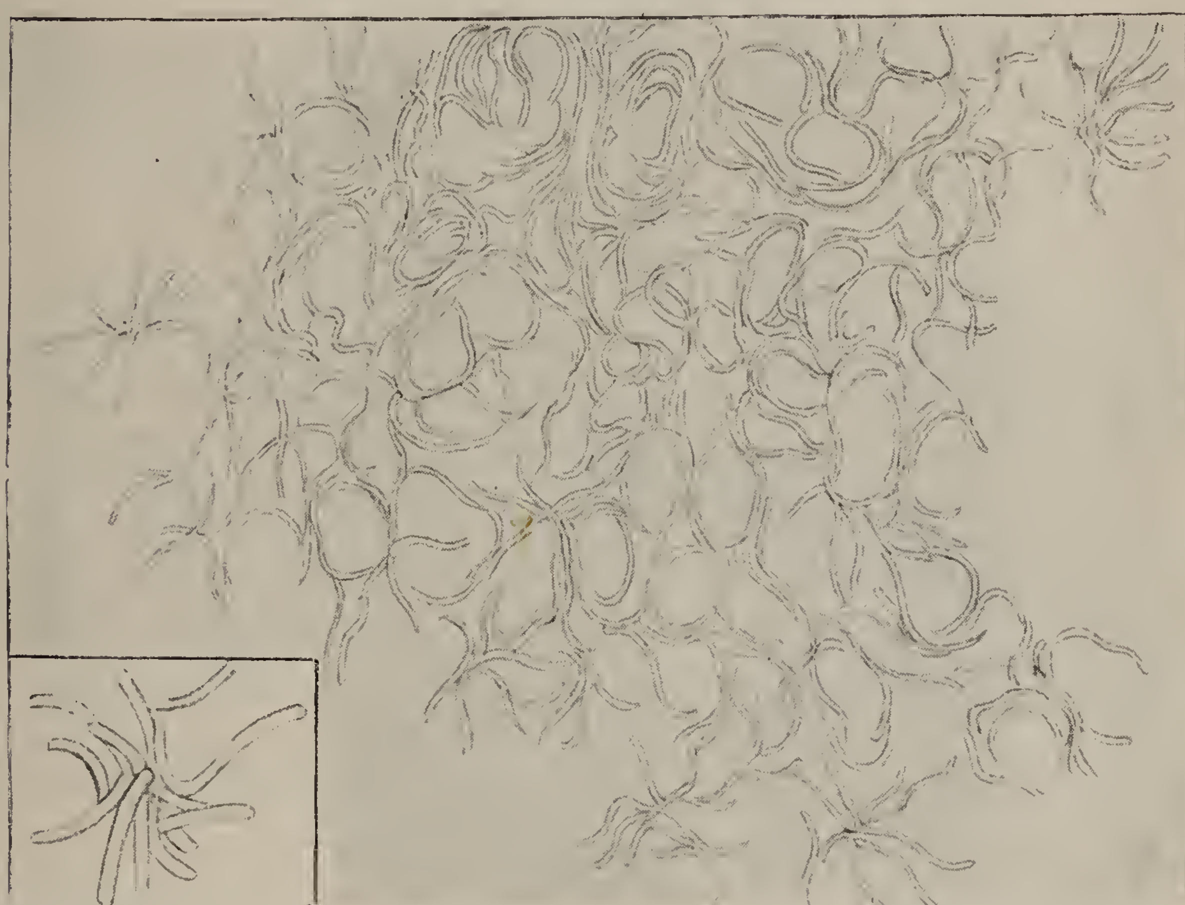


Fig. 4.

cielle, apparaît formé de très fines et très petites aiguilles recourbées, rassemblées autour de points communs (fig. 4).

Une liqueur témoin de composition semblable, sans urée, ne présentait qu'un louche extrêmement faible après 1 heure. Abandonnée 24 heures, elle contenait un dépôt peu important de cristaux blancs opaques, principalement formés de xanthane pouvant atteindre ou dépasser 1 cent. de long, paraissant formés de paillettes ou d'aiguilles parfois recourbées et ramifiées.

L'examen microscopique révèle qu'ils sont formés de lames losangiques assemblées de diverses façons (fig. 5).

Précipitation de 1 centième de milligramme d'urée à la dilution de 1/100.000.

La même expérience, instituée sur des quantités dix fois moindres (1 cent. cube de solution d'urée à 1/100.000 et d'acide acétique, 0 cent. cube 08 de xanthydrol méthylique), conduit au même résultat.



FIG. 5.

4. PRÉCIPITATION DE L'URÉE A DES DILUTIONS SUPÉRIEURES AU CENT MILLIÈME (1/100.000).

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Acide acétique cristallisable	100 cent. cubes
Xanthydrol	0g25
Solution aqueuse d'urée	900 cent. cubes

Mode opératoire. — On ajoute la liqueur aqueuse d'urée à la solution de xanthydrol dans l'acide acétique.

Le précipité, recueilli le lendemain, lavé avec un peu d'alcool, est dissous au reflux dans ce solvant. L'uréine xanthylée se dépose en filaments groupés caractéristiques.

Dilution de l'urée à 1/100.000. — *a*) Un litre d'acide acétique à 1/10 contenant 0 gr. 25 de xanthydrol et 0 gr. 01 d'urée, se trouble quelques minutes après sa préparation.

Une solution sans urée, de composition semblable, se trouble aussi mais plus lentement et avec moins d'intensité.

Après 17 heures, le témoin contenait de petits cristaux brillants de xanthone et de xanthane et la solution d'urée un dépôt floconneux, très volumineux, d'uréine impure.

b) Cinq litres d'acide acétique à 1/10, contenant 0 gr. 75 de xanthydrol, reçoivent 0 gr. 0485 d'urée.

Poids du dépôt après deux jours, lavé à l'acide acétique à 1/10, à l'eau, puis séché : 0 gr. 3475.

Azote contenu dans ce produit brut trouvé. . . . . . 6,26 p. 100

Azote pour $CO\left[NHCH\begin{matrix}\diagup C^6H^4 \diagdown \\ \diagdown C^6H^4 \diagup\end{matrix}O\right]^2$ calculé. . . . . 6,66 p. 100

L'urée ainsi retrouvée sous forme d'uréine représente donc environ 96.09 p. 100 de la quantité mise en expérience.

Dilution à 1 millionième (1/1.000.000). — La même méthode, appliquée à une solution contenant 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée par litre, permet d'isoler, après 17 heures, l'urée dixanthylée. Le précipité, recueilli par centrifugation, lavé à l'alcool froid, est épuisé par ce solvant au reflux (20 cent. cubes).

L'uréine cristallise par refroidissement en filaments groupés caractéristiques. Elle forme après essorage un feuillet brillant argenté. Sa fusion-décomposition, en tube étroit, dans la vapeur d'oxyde de phényle bouillant (261° corr.) est complète après 9 minutes.

5. IDENTIFICATION DE L'URÉE DIXANTHYLÉE. *Purification de l'urée xanthylée.* — Dans une foule de circonstances ce corps brut paraît sensiblement pur à l'analyse.

Se présente-t-il souillé d'impuretés, il est facile de s'en débarrasser en utilisant : son inaltérabilité dans les lessives alcalines bouillantes; sa très faible solubilité dans la plupart des dissolvants, et enfin sa recristallisation dans la pyridine qui, après en avoir dissous environ 1 p. 100 à l'ébullition, l'abandonne en majeure partie par refroidissement à l'état de belles aiguilles soyeuses, formées de longs filaments non groupés.

Cristallisation de l'urée xanthylée en filaments groupés. — La solution, obtenue en maintenant quelques minutes à l'ébullition, de l'alcool contenant un peu d'uréine, laisse apparaître

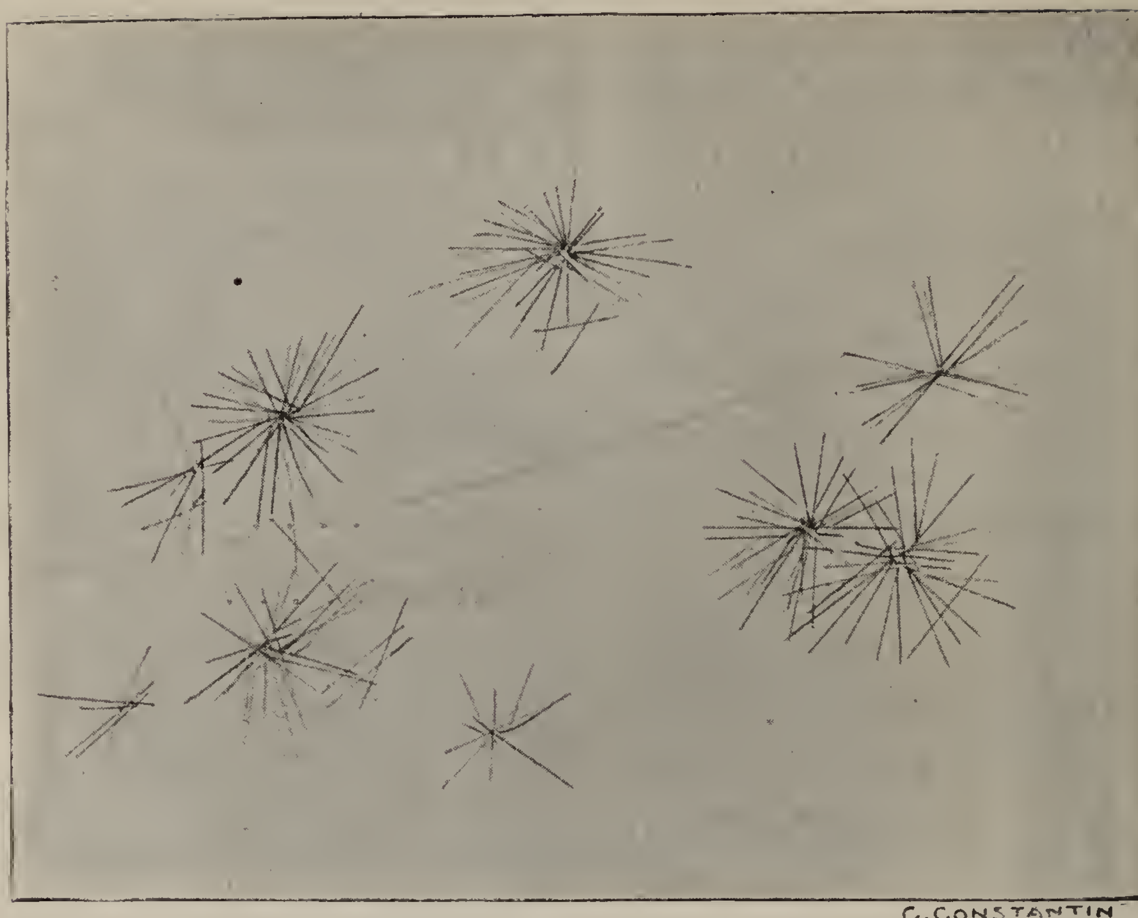


FIG. 6.

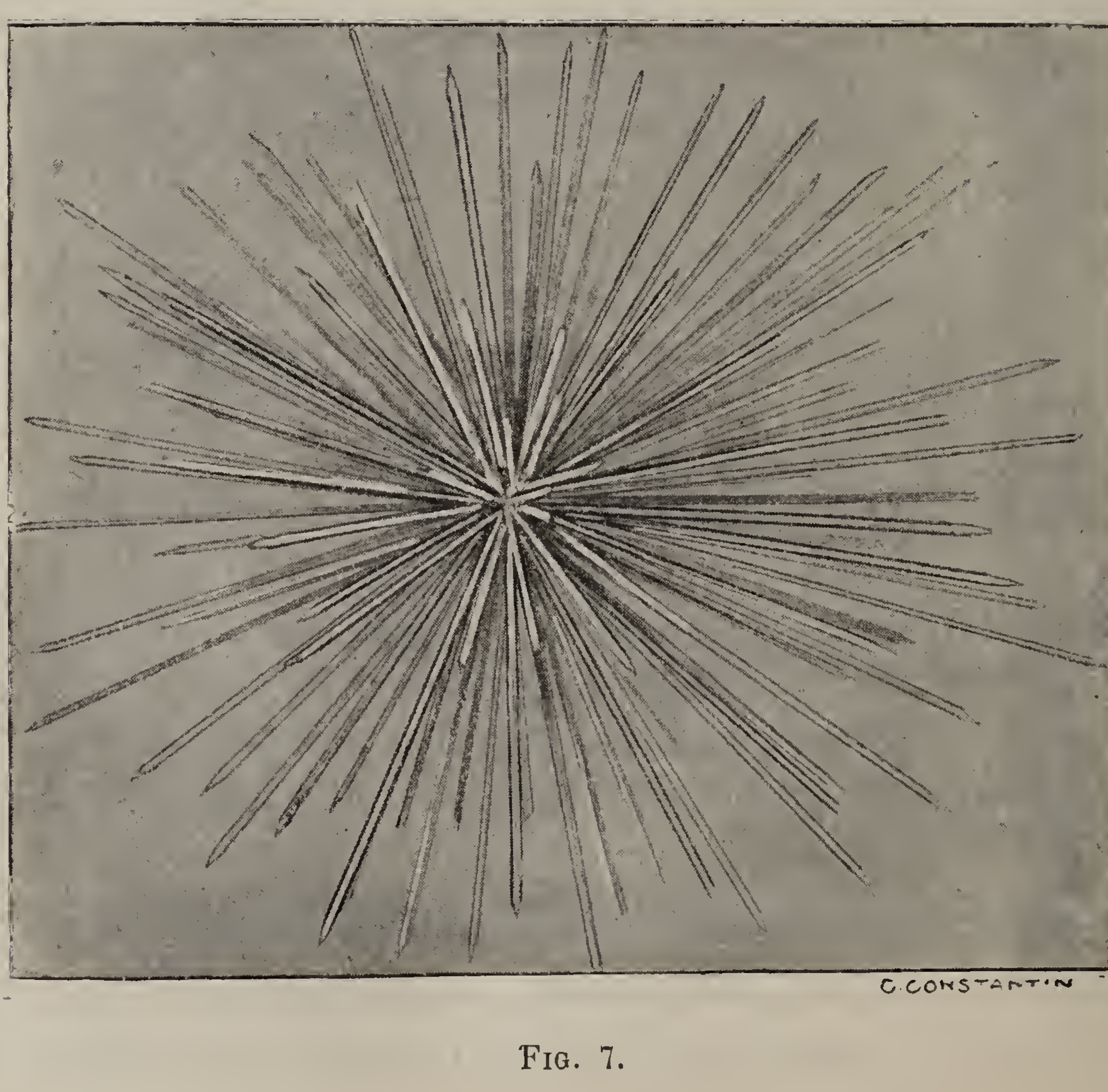


FIG. 7.

après filtration de petits cristaux brillants. Le lendemain, un des amas floconneux contenus dans le liquide, examiné au microscope, se présente sous l'aspect des figures 6 et 7.

Même lorsque la quantité d'uréine est extrêmement faible, sa recristallisation est encore possible.

Cristallisation de 1/10 de milligramme (0 gr. 0001) d'urée dixanthylée. — La solution obtenue en chauffant à l'ébullition quelques minutes, dans un tube à essais, 2 cent. cubes d'alcool



Fig. 8.

avec cette quantité de matière, versée bouillante sur filtre et entonnoir chauds, est reçue dans un petit cristallisoir sortant de l'étuve. La paroi plane du vase, examinée au microscope après douze heures, apparaît recouverte de bâtonnets groupés (faible grossissement) ou de longs filaments issus d'un même point (fort grossissement), ainsi qu'en témoignent les photographies ci-jointes prises par M. Carin aux laboratoires de zoologie de l'Université de Lille (fig. 8 et 9).

Détermination de la durée de fusion-décomposition de l'uréine dans la vapeur d'oxyde de phényle en ébullition (261° corr.). — La matière, enfermée en tube étroit, clos à ses deux extrémités, plongée dans la vapeur de l'éther phénylique en ébullition,

conserve sa couleur blanche et l'état solide pendant plusieurs minutes, puis se colore et fond en se décomposant avec formation d'un liquide coloré. L'extrémité supérieure du petit tube présentée à la flamme produit une légère déflagration.

L'uréine très pure, ayant subi plusieurs cristallisations, exige au moins 15 minutes de chauffage dans ces conditions pour être complètement fondue. Une trace d'impureté abaisse la durée de sa fusion-décomposition.

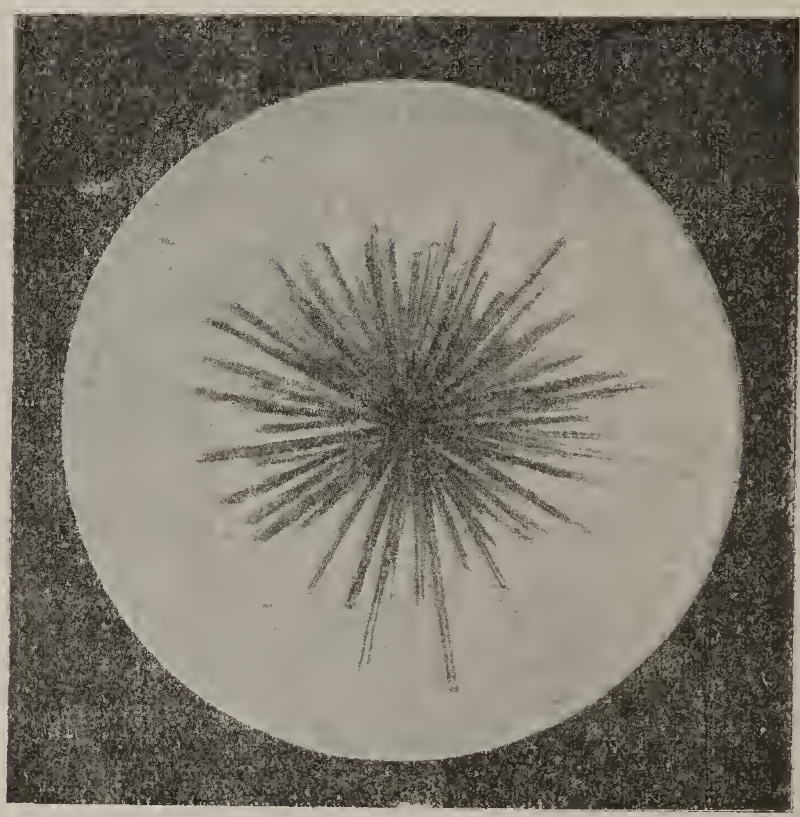


Fig. 9.

Analyse quantitative de l'uréine. — Pour baser sur l'analyse quantitative de l'azote, l'identification de l'uréine et par suite celle de l'urée, on a le choix entre deux méthodes :

1. Le dosage volumétrique, d'après la méthode de Dumas qui, dans les conditions de son emploi courant, sans pompe à mercure, conduit, ici comme ailleurs, à des chiffres légèrement plus forts que ne l'indique la théorie.

2. Le titrage alcalimétrique, d'après Schlœsing, de l'ammoniaque, formée par hydrolyse sulfurique. Cette dernière méthode, très rapide, donne des résultats rigoureux si l'on a soin de déterminer, au préalable, l'ammoniaque inclus dans les réactifs employés et de faire usage pour la partie descendante de l'appareil distillatoire, non de verre à souffler ordi-

naire, mais de cristal incapable de céder au distillat des traces appréciables d'alcalinité.

Ces constatations ont été faites au cours d'un grand nombre d'analyses, ayant pour but de déterminer le degré de pureté de l'uréine précipitée dans des milieux de concentration variable en xanthydrol.

Si, pour produire l'hydrolyse de l'uréine, on se contente de chauffer ce corps avec de l'acide sulfurique seul, tout l'azote passe bien à l'état d'ammoniaque

$$CO.\left[NH - CH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O\right]^2 + 2\,H^2O = CO\left\langle{}^{NH^2}_{NH^2}\right. + 2\,CHOH\left\langle{}^{C^6H^4}_{C^6H^4}\right\rangle O$$

$$CO\left\langle{}^{NH^2}_{NH^2}\right. + H^2O = CO^2 + 2\,NH^3$$

Mais une partie du xanthydrol formé réagit sur lui-même en produisant de la xanthone et du xanthane entraînable pendant la distillation de l'ammoniaque par la vapeur d'eau.

Le xanthane neutre, sans action sur les indicateurs et les résultats du titrage, offre cependant l'inconvénient de souiller l'intérieur du réfrigérant et de communiquer une légère opalescence au distillat.

Ce liquide est, au contraire, parfaitement limpide si l'on provoque l'hydrolyse par l'acide sulfurique contenant un peu de sulfate mercurique, ainsi que le comporte d'ailleurs la méthode de Kjeldahl. Dans ces conditions, le xanthydrol ne produit pas de xanthane, mais passe par oxydation à l'état de xanthone, non entraînable sensiblement dans les conditions de l'expérience.

Enfin, il n'est point nécessaire, comme dans la méthode de Kjeldahl, de détruire la matière organique, ce qui exigerait ici un temps considérable par suite de l'extrême résistance de la xanthone à l'oxydation. Un court chauffage au voisinage de l'ébullition (30 minutes au maximum) suffit très largement.

CHAPITRE V

ANALYSE QUANTITATIVE GRAVIMÉTRIQUE DE L'URÉE

Cette méthode diffère essentiellement de celles qui sont en usage par son principe et le contrôle dont elle est susceptible.

Au lieu de détruire la carbamide et de ramener son dosage à la mesure de ses produits de décomposition, nous la transformons en son dérivé dixanthylé caractéristique, que nous pesons.

Tandis qu'on ne peut vérifier si l'azote ou l'ammoniaque, recueillis dans les procédés actuels de dosage, proviennent de l'urée ou d'une autre substance azotée, il est, au contraire, possible et facile de contrôler par l'analyse élémentaire aussi bien l'identité que la pureté du précipité.

Nous avons d'abord utilisé un procédé directement applicable à des liqueurs de richesse en urée, très variable, depuis quelques centigrammes jusqu'à 25 grammes par litre. Les chiffres obtenus pour ces diverses concentrations étaient très approchés. Comme la concentration en xanthydrol alcoolique et la durée de la condensation variaient dans de vastes limites, nous avons été conduit à instituer une méthode de dosage de l'urée dans des milieux contenant des proportions fixes de xanthydrol, d'acide acétique, d'eau et d'alcool, afin de diminuer et de fixer le temps nécessaire à la précipitation complète de l'uréine.

Deux milieux ont été choisis : l'un pour des concentrations en urée supérieures à 1 gramme par litre; l'autre pour des concentrations inférieures à 1 gramme.

Avant d'étudier ces deux procédés auxquels nous donnons toujours actuellement la préférence, nous décrirons d'abord celui qui est signalé et utilisé dans nos premières recherches.

1. Dosage de l'urée en milieu acétique a 50 p. 100 avec quantités variables de xanthydrol et d'alcool. — *Mode opératoire.* — Une portion de la liqueur d'urée, étendue de son

volume d'acide acétique cristallisable, est pourvue d'un certain volume de solution alcoolique de xanthydrol à 1/20 (30 cent. cubes environ pour 0 gr. 10 d'urée) et de la même quantité d'acide acétique.

La durée de condensation varie et nécessite un certain nombre d'heures.

Dans le cas d'une solution très concentrée en urée (20 grammes par exemple), nécessitant l'emploi d'un milieu très chargé en alcool, la vitesse de précipitation s'approche d'un minimum. On laisse alors la condensation se produire pendant une douzaine d'heures. Le précipité n'est recueilli que le lendemain.

Le rapport des poids moléculaires

$$\frac{CO\left[NH - CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O\right]^2}{CO.(NH^2)^2}$$

étant égal à :

$$\frac{420}{60} \text{ ou } 7,$$

le poids d'urée, contenu dans le volume de liqueur examiné, sera égal au poids d'uréine divisé par 7.

Les valeurs numériques, obtenues en appliquant la méthode au dosage d'une solution d'urée de titre inconnu, ne peuvent être considérées comme exactes, qu'autant que le poids d'uréine, recueilli après 12 heures de condensation, est très sensiblement inférieur à celui du xanthydrol mis en réaction.

Ces deux quantités sont-elles voisines? On doit recommencer le dosage en diluant la liqueur à titrer ou en augmentant la proportion de xanthydrol.

2. Analyse de liqueurs de concentration, en urée, supérieure a 1 gramme par litre. — Cette méthode a été instituée en vue de l'examen de l'urine, ainsi que pour permettre d'obtenir aisément la dixanthylurée en quantité suffisante pour l'analyse élémentaire et à un degré connu de pureté.

Elle est applicable directement au titrage de solutions dont la teneur en urée est comprise entre 1 gramme et 5 grammes et, après dilution, à celles dont la concentration dépasse ce maximum.

Composition du milieu de précipitation.

Solution d'urée.	1 » cent. cube.	20 cent. cubes.
Acide acétique cristallisable	3,5	70
Solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool absolu.	0,5	10 —
	5 » cent. cubes.	100 cent. cubes.

Mode opératoire A. — La solution d'urée est additionnée d'abord de 3,5 fois son volume d'acide acétique puis de son demi-volume de xanthydrol alcoolique.

Après 1 heure, la bouillie blanche, cristallisée, est essorée, lavée à l'alcool, séchée, pesée et analysée.

TITRE EN URÉE (*litre*)			POIDS D'URÉE			RAPPORT du XANTHYDROL à l'urée dans le mélange réactionnel	ANALYSE DE L'URÉINE Théorie N p. 100 6,66. Trouvé N p. 100 par la méthode de DUMAS
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Erreur p. 100		
5 gr.	4gr93	— 0gr07	0gr05	0gr0493	— 1,4	10	6,72
	4,955	— 0,045	»	0,04955	— 0,9	»	6,77
	4,934	— 0,066	»	0,04934	— 1,32	»	6,77
2 gr.	2,04	+ 0,04	0,02	0,0204	+ 2 »	25	6,67
1 gr.	1,0085	+0,0085	0,02	0,02017	+ 0,85	50	6,58
	1,011	+0,011	......	0,02022	+ 1,1	»	

Si on compare les résultats du titrage de la solution d'urée à 5 grammes avec ceux des liqueurs moins concentrées qui suivent, on constate que l'erreur commise change de signe. Tandis qu'elle est par défaut et oscille autour de — 1 p. 100 pour le titre de 5 grammes, elle s'élève à + 2 p. 100 pour la liqueur à 2 grammes.

L'explication de ce fait, qui peut paraître assez singulier *a priori*, nous est donnée par l'analyse élémentaire. Celle-ci établit que la teneur en azote de l'uréine décroît légèrement, et que par conséquent sa pureté diminue également, lorsque le rapport du xanthydrol à l'urée augmente dans le mélange réactionnel.

Mode opératoire B. — L'uréine est plus pure à l'analyse et

l'erreur d'approximation de signe constamment négatif si, au lieu d'introduire en une seule fois le xanthydrol, on l'ajoute par petites portions.

Un volume de la liqueur d'urée reçoit d'abord 3,5 fois son volume d'acide acétique, puis son demi-volume de solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique, introduit en cinq fractions égales et à 10 minutes d'intervalle. Les cristaux sont recueillis 1 heure après la dernière addition.

Analyse de l'uréine. — La méthode de Dumas conduit à des nombres un peu *trop élevés*; celle de Schlœsing donne des chiffres plus approchés, *par défaut*, et permet de reconnaître des variations assez faibles dans le degré de pureté de l'uréine, si l'on observe les précautions que nous avons déjà eu l'occasion de signaler à propos de l'identification de l'uréine.

ANALYSE DE L'URÉINE PURE, AYANT SUBI DEUX CRISTALLISATIONS.

THÉORIE N p. 100	TROUVÉ N p. 100 PAR LA MÉTHODE DE	
	DUMAS	SCHLŒSING
6,66	6,85	6,661

Dosage de l'urée dans des liqueurs titrées de 1 à 5 grammes, et analyse de l'uréine brute, totale, précipitée.

TITRE EN URÉE (*litre*)			POIDS D'URÉE			RAPPORT du XANTHYDROL à l'urée dans le mélange	ANALYSE DE L'URÉINE totale Trouvé N p. 100 par la méthode de :	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Erreur p. 100		DUMAS	SCHLŒSING
1 gr.	0g9925	— 0g0075	0g02	0g01985	— 0,75	50	6,64	
	0,990	— 0,01	»	0,0198	— 1 »	»	....	6,52
2 gr.	1,98	— 0,02	»	0,0198	— 1 »	25	6,68	
	1,978	— 0,022	»	0,01978	— 1,07	»	....	6,57
3 gr.	2,943	— 0,057	»	0,01962	— 1,8	16,6	6,74	
	2,932	— 0,068	0,04	0,0391	— 2,1	»	....	6,58
								6,60
4 gr.	3,914	— 0,006	0,02	0,01957	— 2,1	12,5	6,78	
	3,907	— 0,093	0,04	0,039017	— 2,3	....	....	6,63
	3,90	— 0,10	»	0,039	— 2,5	»		
5 gr.	4,884	— 0,116	0,025	0,02442	— 2,2	10 »	6,83	
	4,856	— 0,114	»	0,02428	— 2,3	....	....	6,66
								6,63

Les chiffres obtenus en dosant de cette manière une liqueur de titre inconnu ne seront considérés comme exacts, qu'autant que le poids d'uréine recueilli sera inférieur ou au plus égal aux 7/10 du xanthydrol mis en expérience. En d'autres termes, pour précipiter l'urée dans les conditions de nos expériences de dosage, nous mettons en œuvre 10 fois au moins son poids de xanthydrol *pur*.

3. Analyse quantitative gravimétrique de l'urée dans l'urine. — *Des matériaux de l'urine, l'urée est le seul, qui, dans des conditions données, précipite le xanthydrol* :

a) De l'urine humaine est traitée par la graine de *Soja hispida*, réduite en poudre, et du chloroforme, à la température ordinaire ou à 45°, jusqu'à ce que la recherche de l'urée conduise à un résultat négatif.

Le mélange formé par cette urine, filtrée, diluée à 1/10 (10 cent. cubes), de l'acide acétique (35 cent. cubes) et du xanthydrol méthylique à 1/10 (5 cent. cubes), était encore rigoureusement limpide après 12 heures d'abandon à la température du laboratoire.

b) Même résultat avec l'urine du cheval.

Influence des protéiques sur le titrage de quantités connues d'urée, ajoutées à l'urine, dépouillée de son urée par contact avec la graine du Soja hispida. — L'expérience exécutée avec une telle solution donne des nombres légèrement trop forts.

La cause en est à la présence des albuminoïdes cédés à l'urine par le végétal.

Quoique ces substances, ainsi que nous l'avons précédemment indiqué, ne précipitent pas le xanthydrol en milieu acétique, elles sont, cependant, susceptibles de souiller les cristaux d'uréine et de provoquer ainsi de faibles erreurs *par excès*.

Les élimine-t-on à l'aide du réactif de Tanret? Le dosage de l'urée dans la solution désalbuminée conduit alors à une erreur *par défaut*, comparable à celle commise en titrant de la même manière une liqueur aqueuse d'urée, de concentration semblable.

Les résultats obtenus sont, d'autre part, très voisins, si l'on soumet à l'analyse l'uréine, précipitée dans les mêmes conditions, soit de cette urine désalbuminée, soit de l'urine sans albu-

mine ou d'une solution d'urée au même titre dans l'eau pure.

POIDS D'URÉE			TITRE EN URÉE (LITRE)			ANALYSE DE L'URÉINE. Théorie N 0/0, 6,66. Trouvé N 0/0.
Théorie	Trouvé	Erreur p. 100	Théorie	Trouvé	Erreur	
Urine humaine avec protéiques, traitée par le soja, puis acétifiée et pourvue d'urée en quantité connue.						
0g020028	0g02007	+ 0g21	20g028	20g07	+ 0g042	
Même urine, sans protéiques.						
0g020028	0g0199	— 0g6	20g028	19g90	— 0g128	6,59
Autre urine, sans protéiques.						
»	0g01928	»	19g28	....	....	6,64
Liqueur titrée d'urée dans l'eau.						
0,020	0g01984	— 0g8	20g00	19g84	— 0g16	6,62

Technique du dosage de l'urée dans l'urine.

Voici, en nous réservant de lui faire subir les modifications ultérieures, la méthode que nous avons longtemps suivie.

Composition du milieu de précipitaton.

Urine diluée à 1/10	10	cent. cubes.
Acide acétique cristallisable	35	—
Solution de xanthydrol à 1/10 dans CH^3OH .	5	—

Mode de précipitation. — Une fiole conique à bec reçoit successivement l'urine diluée et mesurée avec précision, l'acide acétique, puis à cinq reprises et à dix minutes d'intervalle 1 cent. cube de xanthydrol méthylique.

Durée de la condensation après la dernière addition du réactif : 1 heure.

Essorage à la trompe sur filtre plan. — On peut faire usage d'un entonnoir de porcelaine Buchner, à la partie perforée duquel adhère intimement un filtre parcheminé, préalablement assoupli dans l'eau, empiétant sur la paroi cylindrique.

Essorage à la trompe sur filtre concave. — Ce procédé de

filtration, qui n'avait pas encore été employé, à notre connaissance, permet de recueillir, aisément et sans la moindre perte possible, l'uréine, en mettant à profit *la propriété que possèdent ses cristaux de former par feutrage un tissu blanc, brillant, rigide, transportable à l'aide de la pince* (fig. 10).

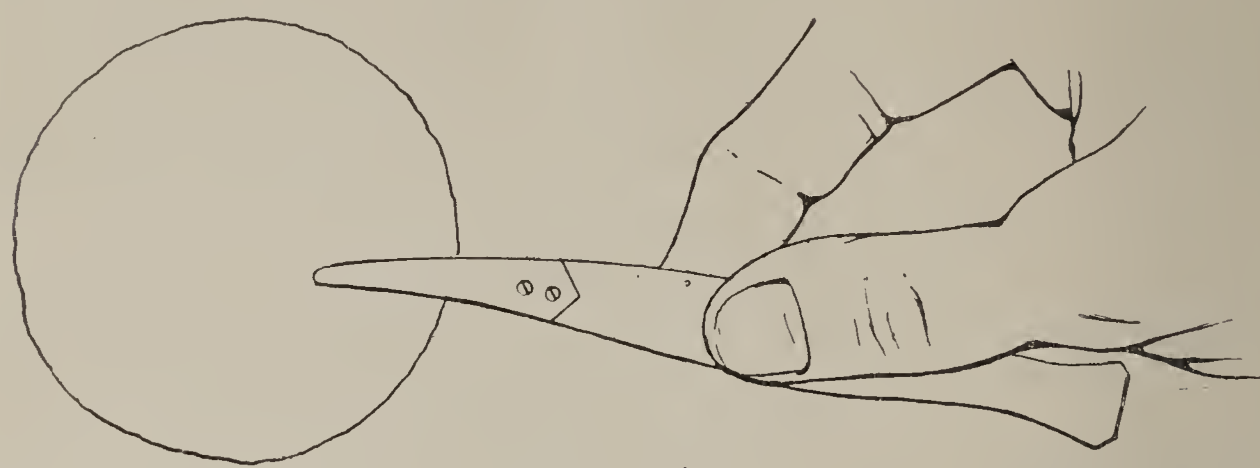


Fig. 10.

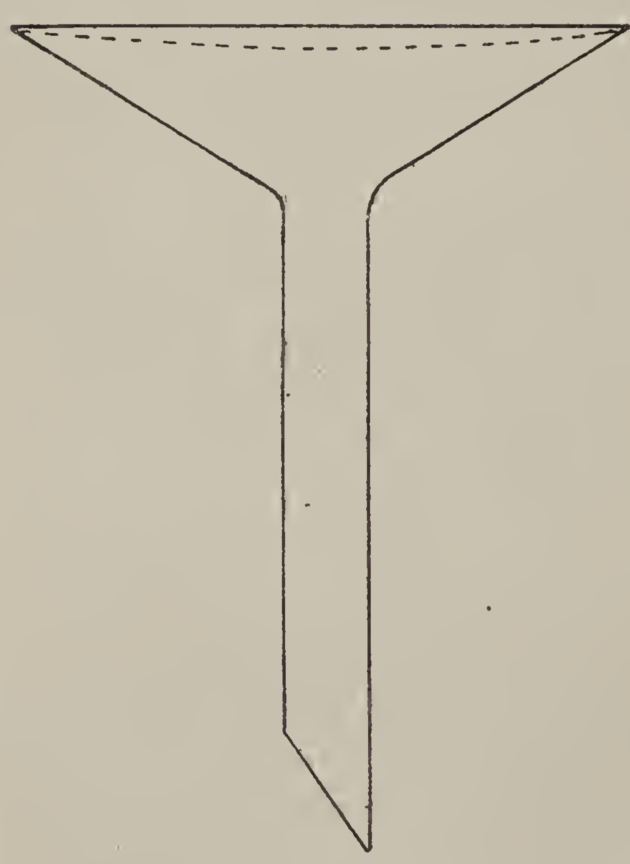


Fig. 11.

L'appareil que nous utilisons est formé d'une calotte sphérique en argent (1), criblée de petits trous et d'un entonnoir de même métal soudés par la circonférence de leur base circulaire, la concavité du diaphragme placée à l'extérieur (fig. 11).

Le filtre, fendu suivant un rayon, est appliqué humide sur la calotte; il en épouse exactement la surface si l'on fait légèrement empiéter un de ses bords rectilignes sur l'autre.

Après essorage de la bouillie cristalline, lavage à l'alcool, on porte quelques minutes à l'étuve le filtre et son précipité ; celui-ci s'en détache spontanément par dessiccation. On le pèse directement sur le plateau de la balance de précision.

(1) Rayon de la sphère : 167 millimètres; diamètre du cercle de base : 7 centimètres.

Il est facile de confectionner soi-même, rapidement, et à peu de frais, un entonnoir à paroi filtrante concave. A la flamme d'un brûleur, on détache le disque perforé d'une passoire (fig. 12). Après l'avoir fixé au moyen du pouce sur un entonnoir de verre d'ouverture convenable, tenu par la main gauche, on coule, avec la droite, de la paraffine entre la paroi interne supérieure de l'entonnoir et le rebord extérieur cylindrique du diaphragme.

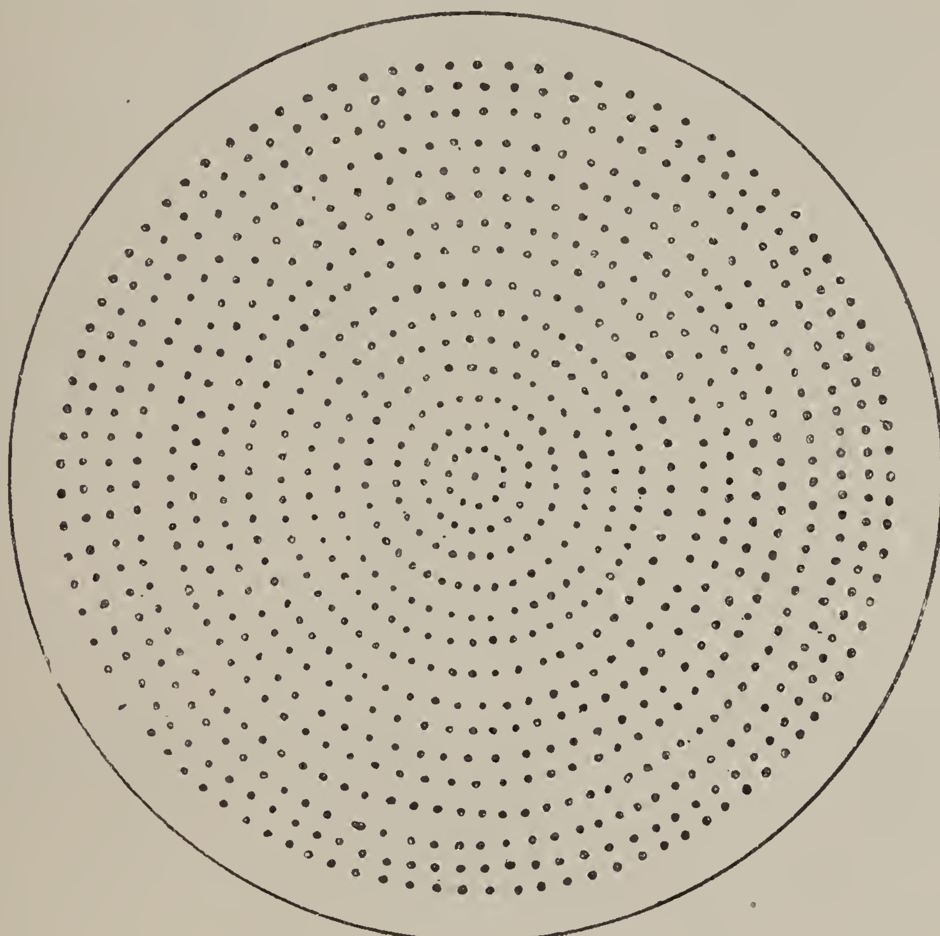


Fig. 12.

Comme le rayon de courbure de cette surface est très grand, il n'est point nécessaire de fendre le filtre pour obtenir l'adhérence complète entre les deux parois.

Cet appareil peut être construit d'une autre manière. On fait choix d'un entonnoir de verre, tel que sa base puisse pénétrer à frottement dur dans la partie cylindrique constituée par le rebord du diaphragme. L'entonnoir est obturé par la pièce métallique. La surface de celle-ci ayant été rendue concave par pression avec les doigts, on coule de la paraffine entre le rebord métallique du filtre et la paroi de l'entonnoir (fig. 13).

On peut enfin, sans inconvénients, substituer aux papiers parcheminés spéciaux, un double filtre ordinaire.

Après avoir bien imbibé d'eau *deux* disques juxtaposés de papier à filtrer d'usage courant, on les pose sur le diaphragme. L'aspiration de la trompe et quelques légères compressions avec les doigts réalisent l'union intime des deux surfaces.

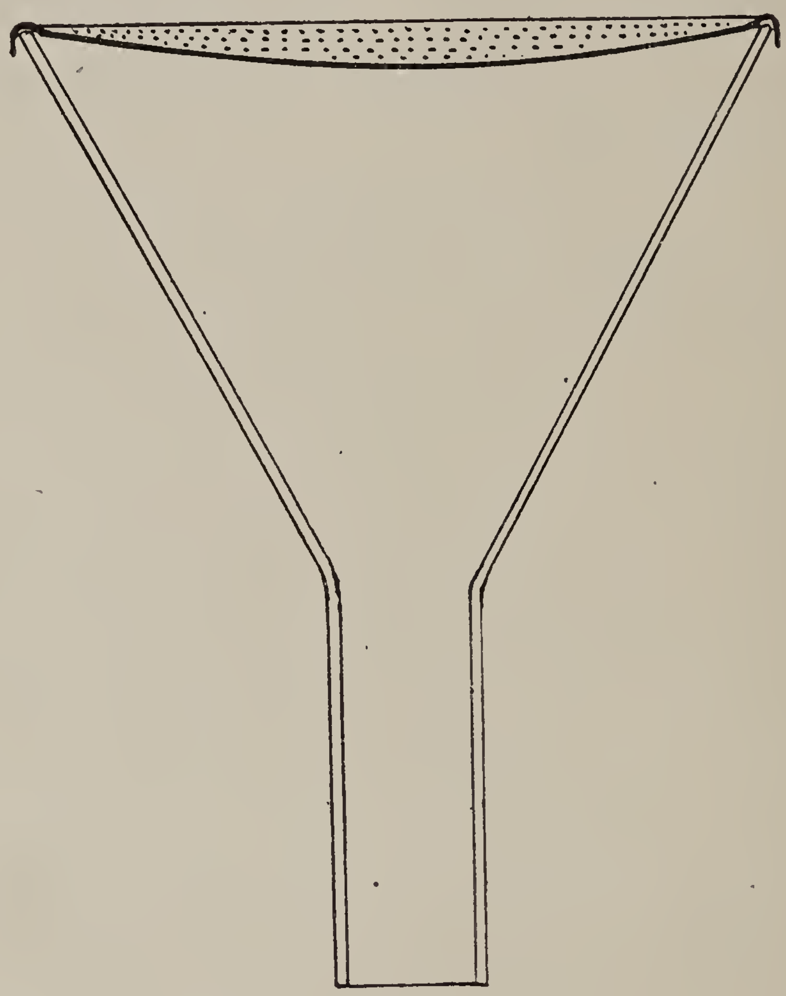


Fig. 13.

4. Dosage de l'urée dans des liqueurs de concentrations comprises entre 0 gr. 100 et 1 gramme par litre. — Cette méthode permet de titrer l'urée pour des concentrations comparables à celles qui se présentent dans le sang de l'homme et des animaux.

Si l'on soumet à l'analyse gravimétrique un centigramme (0 gr.01) d'urée, empruntée à des liqueurs dont la concentration varie entre 0 gr. 100 et 1 gramme par litre, on constate que l'erreur commise, par excès ou par défaut, *affecte généralement la troisième décimale du titre*, *plus rarement la deuxième.*

En opérant sur des quantités encore plus petites, 2 milligrammes à 2 milligr. 1/2 (0 gr. 002 à 0 gr. 0025) d'urée et en déterminant les faibles poids d'uréine correspondants (0 gr. 014 et 0 gr. 0175 environ) à l'aide d'une balance d'ana-

lyse *ordinaire* (1), on obtient encore, au signe près de l'erreur commise, des résultats très voisins des précédents.

COMPOSITION DU MILIEU DE PRÉCIPITATION.

Solution d'urée.	1 cent. cube
Acide acétique cristallisable.	2 —
Liqueur méthylique de xanthydrol à 1/10 .	$3 \times \frac{1}{20}$.

Mode opératoire A. — La solution d'urée, exactement mesurée, étendue de deux fois son volume d'acide acétique, reçoit à trois reprises et à dix minutes d'intervalle 1/20 de son volume de xanthydrol méthylique. Le précipité est recueilli 1 heure après la dernière addition du réactif.

Mode opératoire B. — Le mélange formé par 1 volume de solution d'urée et 2 volumes d'acide acétique est additionné d'une quantité de xanthydrol méthylique égale à 1/20 du volume total. Durée de la condensation : 1 heure.

L'analyse de l'uréine totale démontre que sa pureté diminue légèrement, lorsque le rapport du xanthydrol à l'urée augmente dans le milieu qui lui a donné naissance.

Dosage de petites quantités d'urée dans des liqueurs de concentrations comprises entre 0 gr. 100 et 1 gr. par litre.

TITRE EN URÉE (*litre*)			POIDS D'URÉINE		POIDS D'URÉE		RAPPORT du XANTHYDROL à L'URÉE	ANALYSE DE L'URÉINE Théorie N p. 100, 6,66. Trouvé N p. 100 par la méthode de	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Théorie	Trouvé		DUMAS	SCHLŒSING
	0g1024	+ 0g0024	0g07	0g0717	0g01	0g01024	150	......	6,30
	0,1023	+ 0,0023	......	0,0716	......	0,01023			
	0,103	+ 0,003	0.....	0,0721	......	0,0103			
	0,096	— 0,004	0,0175	0,0169	0,0025	0,00241			
0g100	0,098	— 0,002	......	0,0172	......	0,00245			
	0,098	— 0,002	......	0,0172	......	0,00245			
	0,099	— 0,001	0,014	0,0139	0,002	0,00198			
	0,096	— 0,004	......	0,0135	......	0,00192			
	0,096	— 0,004	......	0,0135	......	0,00192			

(1) Ces expériences seront reprises avec un instrument plus sensible.

TITRE EN URÉE (*litre.*)			POIDS D'URÉINE		POIDS D'URÉE		RAPPORT du XANTHYDROL à L'URÉE	ANALYSE DE L'URÉINE Théorie N p. 100 6,66 Trouvé N p. 100 par la méthode de	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Théorie	Trouvé		DUMAS	SCHLŒSING
0g125	0g128	+ 0g003	0,07	0g0722	0,01	0g0103	120	......	6,31
	0,128	+ 0,003	......	0,0722	....h.	0,0103			
	0,123	— 0,002	0,0175	0,0173	0,0025	0,00247			
	0,123	— 0,002	......	0,0173	......	0,00247			
	0,122	— 0,003	......	0,0171	......	0,00244			
0g200	0g201	+ 0g001	0g07	0g0704	0g01	0g01005	75		
	0,202	+ 0,002	......	0,0709	......	0,0101			
	0,202	+ 0,002	0,014	0,0142	0,002	0,00202			
	0,204	+ 0,004	......	0,0143	......	0,00204			
	0,201	+ 0,001	......	0,0141	......	0,00201			
	*0,198	— 0,002	......	0,0139	......	0,00198			
	*0,201	+ 0,001	......	0,0142	......	0,00202			
	*0,2001	+ 0,0001	......	0,0141	......	0,00201			
0g250	0g2514	+ 0g0014	0g07	0g0704	0gg01	0g00057	60	6g50	6,41
	0,250	0	......	0,07	......	0,01			
	*0,2517	+ 0,0017	......	0,0705	......	0,01007			
	*0,2525	+ 0,0025	......	0,0707	......	0,0101			
	*0,248	— 0,002	0,0175	0,0174	0,0025	0,00248			
	0,247	— 0,003	......	0,0173	5	0,00247			
	0,247	— 0,003	0,014	0,0139	0,002	0,00198			
	0,251	+ 0,001	......	0,0141	......	0,00201			
0g500	0g500	0g	0g14	0g14	0g02	0g02	30	6g62	6,44
	0,4995	— 0,0005	......	0,1399	......	0,01998			
	0,5002	+ 0,0002	......	0,1401	......	0,02001			
	0,500	0	0,07	0,07	0,01	0,01			
	0,500	0	......	0,07	......	0,01			
	*0,498	— 0,002	......	0,0698	......	0,00997			
	*0,498	— 0,002	......	0,0698	......	0,00997			
	*0,505	+ 0,005	......	0,0707	......	0,0101			
	0,500	0	0,0175	0,0175	0,0025	0,0025			
	0,496	— 0,004	......	0,0174	......	0,00248			
	*0,500	0	......	0,0175	..,...	0,0025			
	*0,496	— 0,004	......	0,0174	......	0,00248			
	*0,502	+ 0,002	0,014	0,0141	0,002	0,00201			
	*0,492	— 0,008	......	0,0138	......	0,00197			
1g00	0g979	— 0g021	0g14	0g1371	0g02	0g01958	15	6g71	6,55
	0,981	— 0,019	......	0,1374	......	0,01962			
	0,980	— 0,02	......	0,1372	......	0,01960			
	0,985	— 0,015	0,014	0,0138	0,002	0,00197			
	0,985	— 0,015	......	0,0138	......	0,00197			
	*0,975	— 0,025	......	0,0137	......	0,00195			
	*0,975	— 0,025	......	0,0137	......	0,00195			
	*0,985	— 0,015	......	0,0138	......	0,00197			

* Les résultats précédés d'un astérique correspondant au mode opératoire B ; les autres au mode opératoire A.

5. Dosage de l'urée dans le sang (exécuté avec MM. A. Robyn et F. François). — On vient de voir quels sont au double point de vue de l'approximation numérique et de la pureté du précipité les résultats obtenus en dosant pondéralement de très petites quantités d'urée, 2 milligrammes à 2 milligr. 1/2 (0 gr. 002 à 0 gr. 0025), empruntées à des solutions dont le titre variait entre 0 gr. 100 et 1 gramme.

Nous nous proposons d'appliquer maintenant cette méthode au dosage clinique de l'urée dans le sang.

L. Hugounenq et A. Morel (1) ont déjà utilisé avec succès le xanthydrol dans ce but. Ces auteurs précipitent l'albumine du sérum par l'alcool, concentrent au bain-marie la majeure partie du filtrat, étendent le produit d'évaporation à un volume connu par de l'alcool à 25 p. 100, de l'acide acétique contenant 1 gramme de xanthydrol et enfin de l'alcool à 95°. Après 24 heures ils recueillent le précipité, le lavent à l'alcool saturé d'uréïne et à son poids ajoutent un chiffre correcteur.

Notre méthode, dont la durée d'exécution complète n'excède pas 2 heures, consiste à précipiter directement l'urée du sérum, dépouillé à froid de ses protéiques.

Élimination des albuminoïdes du sérum. — Il est possible de condenser l'urée et le xanthydrol, directement au sein du sérum, dissous dans quantité suffisante d'acide acétique; mais l'urée dixanthylée ainsi formée est impure, elle englobe de petites quantités d'albumine que des lavages prolongés sont impuissants à lui enlever.

L'analyse révèle encore que ce corps possède une teneur azotée notablement supérieure à la théorie, si l'on opère sur le sérum imparfaitement désalbuminé, tel qu'il se présente, par exemple, après 1 heure de chauffage vers 70-80°, avec son volume d'eau acétifiée à 1 p. 100, et sans addition de matière saline.

L'uréine ne retient plus sensiblement d'albumine si l'on provoque sa formation dans du sérum préalablement déféqué par l'iodomercurate acétique de Tanret.

Nous avons utilisé cet excellent réactif en augmentant sa

(2) Louis Hugounenq et A. Morel, *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 17 mai 1913, t. LXXIV, p. 1055, et 14 mars 1914.

concentration, afin de faciliter les manipulations et d'éviter de trop diluer le sérum.

Milieu adopté pour la précipitation de l'urée.

Eau.	1 cent. cube
Acide acétique cristallisable	2
Solution méthylique de xanthydrol à 1/10 . .	$3 \times \frac{1}{20}$

Réactif de Tanret concentré.

Chlorure mercurique	2gr71
Iodure de potassium.	7.2
Acide acétique cristallisable.	66cmc,6

Mode opératoire. — On introduit à l'aide d'une pipette à deux traits, dans un tube à centrifuger, 10 cent. cubes de sérum et le même volume d'iodomercurate acétique. Le tout intimement mélangé à l'aide d'une baguette de verre, soumis à la force centrifuge, donne environ 17 cent. cubes de liquide limpide. Une fiole conique à bec reçoit successivement une partie aliquote de celui-ci, 15 cent. cubes, le même volume d'acide acétique et enfin une quantité de xanthydrol méthylique, égale à 1/20 du volume total, c'est-à-dire ici 1 cent. cube 5.

On peut aussi faire ces mesures et opérer sur la presque totalité du sérum désalbuminé à l'aide de burettes à robinet, graduées à 1/20 de cent. cube, portant le zéro de la graduation sur une partie rétrécie voisine de la douille.

Enfin, si l'on ne dispose pas de centrifugeuse, on essore à la trompe le mélange de 10 cent. cubes de sérum et de 10 cent. cubes d'iodomercurate, puis à 10 cent. cubes du liquide limpide on ajoute 10 cent. cubes d'acide acétique et 1 cent. cube de xanthydrol méthylique.

Après 1 heure de condensation, on essore à la trompe sur filtre concave d'après la méthode indiquée. On versera la bouillie cristalline vers le centre du filtre de manière à en recouvrir constamment une même surface peu étendue, au plus égale à celle d'une pièce de 2 francs s'il s'agit de sérum humain normal. Après lavage à l'alcool, dessiccation quelques minutes à l'étuve, on pèse le petit disque directement sur le plateau de la balance de précision.

Calcul des résultats. — L'urée correspondante à la partie aliquote considérée est égale au poids d'uréine obtenu, divisé par 7.

Si l'on suppose, ce qui n'est pas absolument rigoureux, que le volume du mélange déféqué, soumis au dosage, correspond à son demi-volume de sérum, on commet, en basant les calculs sur cette donnée, une erreur par excès, qui n'affecte cependant que la deuxième ou la troisième décimale du titre.

Le titre ainsi calculé devient alors, en partant de 10 cent. cubes de sérum et en désignant par n le nombre de centimètres cubes du mélange déféqué qui ont donné un poids p d'uréine :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times \frac{10 \times 2}{n} \times 100 \text{ grammes.}$$

En précipitant l'urée contenue dans 15 cent. cubes de sérum déféqué, l'expression devient :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times \frac{10 \times 2}{15} \times 100 \text{ grammes.}$$

Si l'on opère sur un volume de liquide déféqué égal seulement au volume de sérum, c'est-à-dire à 10 cent. cubes, le titre est représenté par :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times 2 \times 100 \text{ grammes.}$$

Nous avons été heureux de pouvoir appliquer cette méthode à l'analyse du sang d'un assez grand nombre de malades des hôpitaux de Lille.

Le professeur Combemale nous a appris que ces déterminations avaient rendu d'importants services dans le diagnostic et le traitement, ce qui confirme, une fois de plus, les résultats des recherches du professeur Vidal et de ses élèves sur l'azotémie.

Séparé de plusieurs de nos registres de laboratoire, nous regrettons de ne pouvoir faire figurer ici les chiffres obtenus en titrant l'urée dans le sang d'individus, sains ou atteints de maladies variées.

Chez les premiers, le titre oscillait entre 0 gr. 2 et 0 gr. 5 pour s'élever chez les autres à 1 et plusieurs grammes.

Dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien d'un malade en coma urémique, nous avons trouvé, quelques heures avant

sa mort, le chiffre exceptionnel de 7 *grammes d'urée par litre.*

De semblables déterminations ont été faites chez le *cheval*, le *bœuf*, le *veau*, le *chien*, le *porc*, le *mouton* et le *lapin*.

Dans le cas du porc, il faut, en général, pour précipiter en totalité les protéiques, accroître la concentration de réactif désalbuminant en iodomercurate.

Le sérum du lapin, normalement alimenté, contient environ 0 gr. 125 d'urée par litre. Si on lui impose le jeûne absolu, l'urée s'élève progressivement à plusieurs grammes. C'est ainsi que nous avons trouvé 5 grammes d'urée dans le sérum de cet animal, privé d'aliments solides et d'eau durant 7 jours.

6. Dosage de l'urée dans le liquide céphalo-rachidien, le lait et les purées d'organe. — La méthode précédente est applicable sans modification au liquide céphalo-rachidien et au lait.

Pour éviter des erreurs dues à la variation de la graisse, nous avons toujours opéré sur le lait écrémé par centrifugation. Les chiffres obtenus paraissent être du même ordre de grandeur que pour le sang.

La précipitation des protéiques contenus dans les purées d'organe nécessite, en général, une concentration beaucoup plus grande du réactif désalbuminant en iodomercurate.

(*A suivre.*)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Novembre. — N° 11.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS

MASSON ET C[ie], ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6[e]).

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et C[ie],
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

PRIX DE L'ABONNEMENT. — Paris : **18** francs; Départements et Union postale . **20** francs.

SOMMAIRE DU N° 11

30e ANNÉE NOVEMBRE 1916 No 11

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

QUELQUES NOTES SUR LA DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE DES ANOPHÉLINES ET DU PALUDISME, A SUMATRA

par le Dr N. H. SWELLENGREBEL (d'Amsterdam).

Après la découverte de Ross, que le parasite du paludisme est transmis par les moustiques du genre *Anopheles*, on crut d'abord que tous les représentants de ce genre sont capables de transmettre le paludisme. L'attention des médecins et des entomologistes étant attirée sur ce groupe d'insectes, on s'aperçut bientôt qu'il était beaucoup plus étendu qu'on ne le croyait et qu'il constituait non pas un simple genre, mais toute une famille contenant un grand nombre de genres.

Il fallait maintenant considérer la question suivante : Est-ce que tous les moustiques appartenant à la famille des Anophélines sont en état de transmettre le paludisme ou non? Cette question n'est pas seulement d'importance académique, elle est aussi d'une valeur pratique : Supposons que, dans une région où sévit le paludisme, on trouve çà et là des gîtes à Anophélines; par ici on trouve telle espèce, par là telle autre; où faut-il commencer la lutte contre les moustiques? Sont-elles toutes de la même importance, ou bien n'y a-il-pas que quelques

espèces qui transmettent le virus palustre? Pour résoudre cette question, il faut d'abord considérer si les Anophélines qu'on étudie permettent le développement du parasite, puis il faut voir s'ils peuvent transmettre ce parasite. Mais cela ne suffit pas : on a démontré que l'Anophéline *peut* transmettre le paludisme et non qu'il est le vecteur le plus commun dans la région où on fait ses études. Pour prouver cela, il faut des données d'ordre biologique et épidémiologique.

Citons quelques exemples :

A Panama, Darling (1909) trouva sept espèces d'Anophélines, trois seulement sont capables de transmettre la fièvre paludéenne.

A Formose, Kinoshita (1906) nous donne la liste de sept espèces d'Anophélines. Quatre d'entre elles sont trop rares pour pouvoir jouer un rôle important dans la transmission du paludisme. Une autre qui peut transmettre la fièvre maligne ne se montre qu'en hiver quand les conditions pour la transmission sont peu favorables. Il n'en reste donc que deux qui sont d'importance pratique et qu'il faut détruire par tous les moyens possibles.

A l'île Maurice, Ross (1909) a trouvé trois espèces d'Anophélines. Une d'elles seulement a de l'importance; des deux autres, l'une est trop rare pour en tenir compte et l'autre ne transmet pas le paludisme.

A Calcutta, Adie et Alcock (1905) ont trouvé que le moustique le plus commun est *Nyssomyzomyia rossii*, mais cette espèce ne transmet pas le paludisme (du moins pas à Calcutta). C'est un moustique beaucoup moins commun (*M. listoni*) qui est le vecteur du parasite. Cette observation montre qu'il est souvent difficile de trouver le vrai vecteur du virus palustre; en se bornant à chercher et à détruire les Anophélines en général, sans tenir compte de l'espèce, on risquerait de perdre son temps et son argent dans une lutte infructueuse contre un moustique inoffensif, mais commun, sans atteindre le moustique rare, mais dangereux.

Ce n'est donc pas à juste titre que Eysell (1910) recommande aux médecins de diriger la lutte contre tous les Anophélines sans tenir compte de l'espèce. C'est vrai qu'il est souvent diffi-

cile de déterminer l'espèce quand on n'est pas spécialiste, mais cette difficulté ne doit pas être insurmontable.

Dans la présente Note, nous voulons exposer quelques faits et considérations relatifs à l'épidémiologie du paludisme à l'île de Sumatra (Indes Néerlandaises) qui montrent, une fois de plus, l'utilité d'une connaissance approfondie des espèces qui constituent la faune anophélienne du district qu'on veut étudier.

* * *

L'île de Sumatra s'étend dans une direction de Nord-Ouest à Sud-Est, entre le 5e degré de latitude septentrional et le 5e degré méridional. Elle est séparée de la presqu'île de Malacca par le détroit de ce nom. Le climat est très humide (60-80 p. 100), la température varie de 27; à 32°.

On sait par les recherches de Watson (1910) qu'à Malacca, où règnent les mêmes conditions climatériques qu'à Sumatra, le paludisme est une des maladies les plus graves; il est donc bien étonnant qu'à Déli, province située à la côte orientale de Sumatra, juste en face de la ville de Klang, de l'autre côté du détroit de Malacca (où Watson a fait ses études), le paludisme soit de peu d'importance dans les grandes plantations de tabac, où travaillent plusieurs milliers de laboureurs indigènes.

La population anophélienne de Malacca est bien connue. Voici de quoi elle se compose d'après la dernière communication de Strickland (1913 *a*) :

Myzomyia albirostris.
Nyssomyzomyia punctulata.
N. rossii.
N. ludlowi.
Neomyzomyia elegans.
Cristophersia halli.
Myzorhynchus sinensis.
M. barbirostris.
Patagiamyia umbrosus.
P. albotæniatus.
Nyssorhynchus maculatus.
N. karwari.
N. fuliginosus.
Neosthetophele aitkenii,

et trois espèces incertaines.

M. Schüffner et nous, avons étudié la faune anophélienne de la plaine de Déli. Nous avons trouvé :

Nyssomyzomyia rossii.
N. ludlowi.
N. punctulata.
Myzomyia albirostris.
Neomyzomyia elegans (*leucosphyrus*).
Myzorhynchus sinensis.
M. barbirostris.
Patagiamyia albotæniatus.
P. umbrosus.
Cristophersia halli.

On voit que cette liste ressemble à celle qu'a donnée Strickland, mais que *Patagiamyia umbrosus* est rare et que les représentants du genre *Nyssorhynchus* font défaut à Déli (1). D'après les recherches de Watson (1910), ce sont précisément ces espèces qui sont les vecteurs les plus importants du virus palustre à Malacca, *P. umbrosus* transmet la fièvre dans les plaines, les *Nyssorhynchus* — surtout *N. maculatus* (*wilmori*) — le font dans les montagnes.

Est-ce à cause de ce manque de vecteur convenable que le paludisme a si peu d'importance à Déli? Nous ne saurions l'affirmer, mais la supposition nous semble plausible.

On trouve cependant à Déli des patients souffrant du paludisme, surtout sur le littoral. C'est là qu'on trouve *N. rossii* et *N. ludlowi*; Schüffner (1902) et Banks (1907) ont démontré que cette dernière espèce peut transmettre les parasites du paludisme. Il semble cependant que ce moustique est beaucoup moins dangereux que *P. umbrosus*.

Dans l'intérieur du district de Déli, aux alentours de la ville de Médan, on trouve *M. sinensis* en abondance. D'après Kinoshita (1906), cette espèce transmet la fièvre tierce; mais, malgré la présence de cette espèce, les fièvres palustres manquent à Médan parmi les Européens, quoique leurs maisons soient à peu de distance des gîtes à Anophélines et que les porteurs de gamètes ne manquent pas parmi les indigènes. Est-ce que leur nombre est trop petit pour alimenter les sources d'infection, ou bien est-ce qu'à Déli *M. sinensis* ne transmet aucune forme de fièvre palustre? Nous ne savons là-dessus rien de précis ; cependant, cette dernière supposition nous semble la plus probable.

M. Schüffner nous a fait remarquer qu'à Déli on trouve çà et là une augmentation notable des cas de fièvre palustre. Sur une des plantations notamment, ce fait est bien évident. Nous y avons trouvé *N. leucosphyrus* en abondance. D'après les renseignements de M. Schüffner qui, depuis plusieurs années, a fait une étude approfondie des moustiques de Déli, cette espèce doit être récemment importée parce que, jadis, elle faisait com-

(1) Plus tard, M. Schüffner a rencontré *N. maculatus* sur le plateau Batak (Sumatra central).

plètement défaut. *N. leucosphyrus* est la seule espèce anophélienne qu'on trouve dans cette plantation; il est donc probable (quoique pas prouvé) que c'est elle qu'il faut incriminer dans la transmission de la fièvre palustre. Si cela est vrai, ce fait offre un exemple frappant des changements nosographiques d'une région quelconque par l'introduction d'une espèce anophélienne nouvelle.

La côte occidentale de Sumatra ne se trouve pas dans les conditions favorables de la côte orientale. A Sibolga, M. de Vogel et nous avons étudié le paludisme qui sévit là d'une manière extrêmement grave. C'est une petite ville située aux bords de la mer, à côté d'un grand marécage marin à rhizophores. On a essayé de combler ce marécage, mais on n'a réussi qu'à en faire une collection de gîtes à Anophélines : dans le marécage primitif, l'eau de mer pénétrait à chaque marée et, avec elle, des poissons et d'autres ennemis des larves. Dans le marécage comblé, l'eau de mer ne peut plus pénétrer et c'est pour cela que les larves des moustiques y pullulent. Un peu plus loin, près du quartier des Européens, on trouve des rizières où il y a aussi des gîtes à Anophélines, mais ici l'eau est douce. Plus haut, dans la vallée qui s'étend dans les montagnes, on trouve de petits villages entourés de rizières qui sont toutes des gîtes à Anophélines.

Auprès du marécage, l'index de la rate est de 98 p. 100. En s'éloignant du marécage, l'index tombe à 89 p. 100 au quartier des Européens, et, en remontant la vallée, ce pourcentage s'abaisse graduellement de 60 à 15 p. 100. Donc, partout des gîtes à Anophélines et cependant l'index de la rate va en diminuant. En ne s'occupant que des Anophélines en général, il faudrait détruire les gîtes dans les rizières aussi bien que dans le marécage, et on serait tenté de commencer par les premiers, ceux-ci étant les plus faciles à supprimer. Et cependant, cela serait une mesure inutile, car les Anophélines des rizières sont d'espèce inoffensive : ce sont des *M. sinensis*, qui ne transmettent que la tierce bénigne, tandis qu'à Sibolga on trouve presque exclusivement la tierce maligne. Au contraire, dans le marécage comblé, on ne trouve qu'une seule espèce : *N. ludlowi*, qui transmet les fièvres palustres, comme l'a démontré Banks.

On a noté une exacerbation des fièvres après qu'on avait

comblé une partie du marécage. La pullulation extraordinaire des *N. ludlowi* qui en fut la suite, causa une augmentation considérable de vecteurs du virus palustre et ceci fut sans doute la cause de cette exacerbation.

Depuis que nous avons fait nos études à Sibolga, on a détruit les gîtes à *N. ludlowi.* Le quartier de la ville situé près de ces gîtes (où vivaient la plupart des porteurs de gamètes) ayant été détruit accidentellement par le feu, on a profité de ce malheur en reconstruisant ce quartier loin du marécage dangereux. On vient de nous informer que, depuis ce temps, le nombre des moustiques et des cas de fièvre a diminué considérablement.

Nos observations faites à Sibolga montrent une fois de plus comme il est dangereux de combler un marécage d'une manière imparfaite, en conservant de petites mares où les poissons ne peuvent vivre et où, par conséquent, les larves des Anophélines pullulent sans être dérangées. C'est là une expérience bien connue et ancienne : Laveran (1908) nous apprend qu'au milieu du XVIII[e] siècle, les États généraux des Provinces-Unies avaient inondé la contrée autour de la ville de Bréda pour protéger le pays contre l'invasion des Français ; après la guerre, on laissa couler l'eau et le pays devint sec, mais marécageux, et bientôt le paludisme s'annonça d'une manière tellement grave, qu'on dut inonder de nouveau le pays pour mettre fin à l'épidémie. A Semarang (Java), de Vogel (1907) trouva les étangs à poissons, le long de la côte, sans larves ; dans les vieux étangs à demi desséchés et sans poissons, il trouva des larves en abondance. Ces étangs-là étaient les gîtes des Anophélines vecteurs du virus palustre.

En comparant la faune anophélienne de la côte orientale (Déli) et occidentale (Sibolga), nous observons qu'elle se compose des mêmes éléments : *N. rossii*, *N. ludlowi*, *M. sinensis.* Cependant à Déli, *N. rossii* prédomine, *N. ludlowi* est plus rare. A Sibolga, c'est justement le contraire et c'est *N. ludlowi* qui est le plus commun. Ceci est d'accord avec l'affirmation que c'est le *N. ludlowi* et non *N. rossii* qui transmet les fièvres palustres.

Il faut bien se garder de généraliser les faits acquis en différents pays tropicaux. *N. maculatus*, si redoutable à Malacca, est tout à fait inoffensif sur le plateau Batak à 1.400 mètres ; un peu plus loin, aux bords du lac Toba, à 900 mètres, ce même

moustique transmet le paludisme (communication inédite de M. Schüffner). Cela montre combien est juste la remarque de Walker et Barber (1914) qu'il faut renouveler les recherches sur la transmission du paludisme, chaque fois qu'il s'agit d'un nouveau terrain d'exploration.

En résumant ces faits, nous observons qu'ils tendent tous à démontrer la nécessité, pour les médecins coloniaux pratiques, d'une étude approfondie de la faune anophélienne dans les régions tropicales. C'est elle qui nous explique souvent les différences de l'index endémique de régions voisines où règnent les mêmes conditions physiques, c'est elle aussi qui nous indique dans quelle voie il faut diriger la lutte contre les moustiques.

Mais, pour que cette étude soit fructueuse, il faut faciliter la détermination des Anophélines. La découverte, la description des *espèces nouvelles* appartiennent aux spécialistes, mais tout médecin pratique doit être en état de reconnaître les *espèces déjà connues*. Pour parvenir à cet idéal, il faut simplifier la nomenclature et bien relever les caractères saillants des espèces. Les États fédérés de Malaisie nous ont donné l'exemple (Strickland 1913 *b*) : il faut le suivre.

BIBLIOGRAPHIE

Adie et Alcock (1905). — On the occurence of *Myzomyia listoni* in Calcutta. *Proc. Roy. Soc.*, t. LXVI, B, n° 510, p. 319.

Banks (1907). — Experiments in malarial transmission, etc. *Philipp. Journ. of Science*, t. II, p. 513.

Darling (1909). — Transmission of malarial fever in the canal zone. *Journ. Americ. Med. Ass.* t. LIII, p. 2051.

Eysell (1910). — *Anopheles rossii*, ein gefährlicher Malariaüberträger. *Arch. f. Sch. u. Tropenhyg.*, t. XIV, p. 416.

Kinoshita (1906). — Ueber die Verbreitung der Anophelen auf Formosa, etc. *Eod. loc.*, p. 621, 676, 708, 741.

Laveran (1908). — *Traité du paludisme*. Paris (Masson, éd.).

Ross (1909). — *Report on the prevention of malaria in Mauritius*. Londres (Churchill, édit.).

Schüffner (1902). — Die Beziehung der Malariaparasiten zu Mensch und Müche. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. XLI, p. 89.

Strickland (1913 *a*). — A revised list of Malayan Anophelines. *Indian Journ. of Med. Research*, t. I, p. 203.

Strickland (1913 *b*). — Short Key to the identification of anopheline mosquitoes of Malaya. *Kuala Lumpur* (*Government printing office ed.*).

De Vogel (1907). — Anophélines dans l'eau de mer. *Atti della Soc. per gli Studi della Malaria*, t. VIII, p. 1.

Walker et Barber (1914). — Malaria in the Philippine Islands. *Philipp. Journ. of science*, Sect. B, t. IX, p. 381.

Watson (1910). — The prevention of malaria in the Federated Malay States. Extr. de : *Prevention of malaria*, par R. Ross. Londres (Murray, éd.), p. 554.

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF DELAYED OR " LATENT " TUBERCULOUS INFECTION

by S. DELÉPINE,
Director of the Public Health Laboratory, University of Manchester.

In the course of an investigation which brought the writer face to face with certain aspects of latent infection, he observed some facts upon which the classical observations of Metchnikoff on Tuberculosis in the Meriones throws much light. Although the following speculative contribution is unworthy of the great master, its subject is not altogether inappropriate to the occasion which has caused it to be written.

The demonstration of the inoculability of Tuberculosis by Villemin, and the discovery of Koch's Bacillus, are the bases upon which our present knowledge of the etiology of Tuberculosis has been firmly established. It must, however, be acknowledged that these fundamental facts are not sufficient to explain fully the distribution of the disease. Our knowledge of the factors which, under ordinary circumstances, determine the incidence of the disease, is still very incomplete. The fact that under experimental conditions it is possible to produce tuberculosis in a normal animal by inoculation, inhalation or ingestion of pure cultures of tubercle bacilli, may for a short time have led some inexperienced observers to believe that the penetration of Koch's Bacillus into human tissues was sufficient in itself to produce Tuberculosis. If this were true, there would be very few persons free from the disease, for its bacillus is so widely distributed that the members of a civilised community who have not at one time or another inhaled or swallowed tubercle bacilli must be very few indeed.

The ubiquity of the tubercle bacillus has led certain statisticians to emit the view that, as regards the occurrence of

tuberculosis, the state of the possible victim is of primary importance, and that Koch's Bacillus must under normal circumstances be considered as a factor of secondary importance. That there is some element of truth in this paradoxical view cannot be entirely denied, but that it is fallacious is quite certain, for it is easy to prove that Tuberculosis cannot be produced without tubercle bacilli, and that all individuals are not equally exposed and liable to infection.

A belief in the fixity of the characters and properties of all the bacilli originally covered by the name of *Bacillus tuberculosis*, has led certain observers to assume the existence of a number of species or races of that organism. The quantitative pathogenicity of these kinds of bacilli constitutes for these observers the chief specific difference between these types. To speak only of Tuberculosis as it occurs in three vertebrata, there would be a human, a bovine and an avian kind of tubercle bacilli with fixed characters. The direct passage of Tuberculosis from birds to mammals and *vice versa* is certainly attended with difficulties, and the same may be said to a lesser degree of the passage of human bacilli to canine or bovine animals. But these difficulties, though usual, are not constant and the writer has observed instances of the direct intercommunicability of tuberculosis between mammals, and between birds and mammals. As to the intercommunicability of tuberculosis among mammals, the author's experience leaves him no room for doubt. In this respect he agrees with several eminent observers and does not think it necessary to do more than state his own views before dealing with the special object of this communication.

What renders the elucidation of the causes of an infectious disease so difficult is that it is necessary to take account of the various ways in which the predisposing and determining factors have combined in their action. These factors may be grouped under at least 6 heads :

Distribution and habits of the pathogenic organism;
Conditions influencing its number;
Conditions influencing its virulence (pathogenicity, toxicity);
Opportunities of access to channels of infection;

Conditions influencing the resistance of the possible host;

Frequency and completeness of recoveries from infection (occult or manifest).

Of the factors which determine the occurrence of infection and the course taken by the disease, there are two which are of special importance, viz., the resistance of the possible host to the infecting parasite, and the pathogenic power of the parasite itself. In the case of the tubercle bacillus, it has been demonstrated clearly, as has been previously noticed, that tubercle bacilli obtained from various kinds of animals are not usually equally pathogenic to certain experimental animals. As to the resistance of the host, apart from the different degrees of resistance which each kind of animal offers to bacilli coming from various other kinds of animals, there are various conditions which influence the resistance of individuals of the same species to any one type of bacillus.

The way in which the parasite and the host react upon each other can be studied most successfully when the infective power of the bacillus and the resistance of the host are almost equally balanced, as has been done by Metchnikoff in his classical study on experimental tuberculosis in the Meriones. His description of the struggle between the tubercle bacillus and the giant cell of the Meriones is very suggestive of what must happen if, for some reason or other, the physiological activity of either the cell or the bacillus is reduced or enhanced. The secretion by the bacillus of concentric layers of a protecting material, and the precipitation of calcareous salt in the parts of the giant cell which are, in all probability, affected by the bacillary toxines, indicate at least part of the mechanism of attack and defence.

In the course of experiments made with the view of ascertaining the effect which the action of various agents had upon the virulence (1) of tuberculous products of human and bovine sources, one is sometimes able to observe evidence of a reduction in the pathogenic power of bacilli, and this reduction may be sufficient to render the cobaye capable of resisting bacillary

(1) The word virulence is here used in its most general sense, including all that renders the organism capable of producing irritative and toxic lesions and of multiplying and spreading in its host.

invasion much in the same way as the Meriones resists the action of bacilli of normal pathogenic power.

For the purpose of estimating the effect which various agents have upon the virulence of a given strain of tubercle bacilli, the cobaye is eminently suitable, because this animal reacts readily and in a very uniform manner to tubercle bacilli obtainable from human, canine, bovine, equine, porcine and other mammalian tuberculous lesions, and in a certain proportion of cases, can also be infected with avian tuberculous products.

Subcutaneous inoculation on the inner aspect of the hind leg at the level of the femoro-tibial articulation with a pure culture or matter containing an extremely small number of bacilli produces in the cobaye typical lesions, the extent and distribution of which are of great value in determining the number and virulence of the bacilli. Subcutaneous inoculations in other parts of the body, or intraperitoneal injections yield much less comparable results.

As lesions appear in new organs, the older lesions increase in extent, passing through stages of necrosis, caseation, fibrosis, etc. At first the organs affected increase considerably in size, but after a time they show a tendency to contraction owing to the production of fibrous tissue and absorption of degenerated products.

The extent and distribution of the tuberculous lesions in an inoculated animal are determined by six factors at least :

1. The number of bacilli,
2. The virulence of the bacilli,
3. The time which has elapsed since infection,
4. The resistance of the animal to infection,
5. The seat of inoculation, and
6. The amount of damage done to the tissues at the time of inoculation.

For purposes of comparison some of these factors may be more or less successfully reduced to constants by suitable precautions.

The differences produced by time can be eliminated by examining the animals after a constant interval of time. The resistance of the animal can be made as constant as possible,

by using animals of the same race, age and weight, and keeping them previous to, and after, inoculation under identical conditions. It is obvious that in practice one is obliged to be satisfied with conditions which are only approximately similar. The seat of inoculation and the amount of damage done to the tissues can be made practically constant by due attention to details.

The only two factors which are necessarily variable are the number of bacilli and their virulence.

With the object of simplifying records one may sub-divide the development of experimental tuberculous lesions in the cobaye into four stages which are determined by the number and situation of tuberculous lesions *visible to the naked eye*. These stages are indicated by the lesions produced in a certain length of time by subcutaneous injection of 1/20th of a milligramme of a pure culture of tubercle bacilli of moderate virulence into the inner aspect of *one hind leg* at the level of the femoro-tibial articulation.

STAGE or DEGREE	TIME after inoculation IN LEFT HIND LEG.	ORGANS AFFECTED WITH LESIONS visible in an ordinary DISSECTION
1.	Within 10 days. . .	Subcutaneous tissue at seat of inoculation, adjacent popliteal gland in left leg.
2.	10 to 20 days. . . .	A. Left superficial and deep inguinal glands. Sacro-lumbar glands. B. Retrohepatic gland and spleen in addition to above.
3.	20 to 35 days. . . .	Liver, lungs, bronchial glands, suprascapular glands, cervical glands on both sides of the body.
4.	35 days and after.	More complete invasion of the lymphatic glands in front of the diaphragm on both sides of the body. *Right* superficial and deep inguinal glands and other glands behind the diaphragm on the right side of the body.

It is obvious that the number of stages could be considerably increased, and that this would allow of the time periods being made more definite; four stages seem, however, sufficient for general purposes of comparison. It might, however,

be advantageous to divide the second stage into two sub-stages indicated by the letters A and B in the above table in which reference is made only to lesions visible to the naked eye after the organs have been exposed by dissection. It is however easy to prove, as the writer has done, that the lymphatic ganglia and other organs are affected several days before lesions are visible to the eye. To do this it is sufficient to test these organs by inoculating cobayes with them at various intervals after the original animal had been inoculated.

The results of some of these tests when a small number of bacilli is used may be summed up as follows :

The popliteal gland on the side inoculated is usually infective 48 hours after inoculation;

The superficial inguinal glands are usually infective from 72 to 96 hours after inoculation;

The spleen is usually infective from 96 to 120 hours after inoculation.

The extent of the lesions is influenced both by the duration of life after inoculation and by the number of bacilli in the material tested. To ascertain the influence of the number of bacilli, four cobayes were inoculated with the sediment of equal quantities of various dilutions of a sample of milk obtained from a cow with advanced tuberculosis of the udder. At the end of 15 days these four cobayes were killed and tuberculous lesions were found in each. There was a distinct relation between the amount of the tuberculous milk (and, therefore, of tubercle bacilli) and the extent of the lesions as is shown by the following table.

DILUTION	QUANTITY OF ORIGINAL MILK contained in the MATERIAL INOCULATED	APPROXIMATE NUMBER of TUBERCLE BACILLI	DEGREE OF TUBERCULOSIS observed AT THE END OF 15 DAYS (*)
1/100.000	0 c.c. 0002	At least 30	2nd A. Lesions small.
1/10.000	0 c.c. 002	At least 300	2nd A. to B. ditto.
1/1.000	0 c.c. 02	At least 3.000	2nd B.
1/100	0 c.c. 2	At least 30.000	3rd Lesions larger.

(*) As indicated by lesions visible to the naked eye.

It would appear that the number of bacilli has a greater influence on the size of the lesions than on the spread of infection. Time has greater influence on the spread.

By the method previously described, it is possible to show that under the influence of certain agents the normal virulence of tubercle bacilli may be considerably reduced. It is also possible to demonstrate that the virulence of bacilli obtained at different times from sources of a similar kind is capable of a considerable variation.

Thus a certain strain of tubercle bacilli, obtained from a human lesion and exhibiting normal virulence so long it was cultivated on blood serum at the optimum temperature, produced only slight and slow spreading lesions after being kept absolutely dry in the dark for 2 months. After dessiccation for a period of over 4 months, the same bacillus was incapable of producing any infective lesion. Other cultures were affected in the same way, but some were able to resist dessiccation for longer periods. Pathological products such as tuberculous sputa, pus, milk are affected in a similar way by drying.

The action of radiant sunlight is so rapidly lethal that it is not easy to regulate the exposure so as to determine accurately the reduction in the virulence of the bacilli.

A reduction of virulence was also observed in the case of tuberculous milk kept at a low temperature (below 6°C.) in the dark for a considerable time. This milk, which had been collected with aseptic precautions and direct from a tuberculous udder in a sterilized vessel, contained a large number of virulent tubercle bacilli and a few other bacteria. When fresh it produced extensive uncomplicated tuberculosis in cobayes inoculated subcutaneously with it. The lesions were as usual extensive in all the lymphatic ganglia connected with the seat of inoculation 3 weeks alter the inoculation. After this milk had been kept for 490 days (1), as stated above, it was still

(1) The same milk was tested again after being kept 4 1/2 years, when it was found that the bacilli were all dead or at any rate incapable of producing tuberculosis. Cobayes inoculated with large quantities of this milk, remained well for over 1 year after inoculation and all their organs were found healthy *post mortem*.

capable of producing tuberculosis, but the mode of spread of the infection was anormal. In the subcutaneous tissue and subjacent muscles in the neighbourhood of the seat of inoculation on the inner aspect of the leg, a large number of small isolated or confluent tubercles formed during the first month, and it was only towards the end of the first month that the inguinal glands began to enlarge. When the cobayes were killed, 3 months after inoculation, it was found that the tissues on the inner aspect of the thigh and the abdominal walls, including the peritoneum, in the corresponding inguinal region were the seat of a very large number of small fibro-caseous tubercles, almost confluent; the lymphatic glands behind the diaphragm were not more affected than is generally found to be the case 3 or 4 weeks after inoculation, but the liver, spleen, the lungs and most of the lymphatics in front of the diaphragm were the seat of extensive tuberculous lesions.

There appeared, therefore, to have been during the first month a tendency to a localisation of the infective process, but afterwards the infective organisme which had been able to pass beyond the locality first affected, must have regained their virulence and power to multiply, for the organs situated at a distance from the seat of inoculation showed lesions resembling closely those observed in the course of normal infection.

Similar effects were observed in the case of tuberculous cultures and tuberculous milk which had been heated for a definite length of time up to temperatures approaching lethal temperatures.

While conducting in 1899 a series of experiments on the sterilization of milk artificially infected with tubercle bacilli of human and of bovine origin, the writer observed that cobayes inoculed with milk which had been submitted to certain temperatures for a certain length of time remained apparently free from infection for several weeks, but that ultimately they became tuberculous. This delayed infection was observed when the milk had been heated to :

65° C. for 180 minutes (3 hours).
70° C. — 45 —
74° C. — 30 —
76° C. — 10 —
85° C. — 15 — (In this case there was a delay of 2 months).

These experiments were conducted with very great care as if the object had been to ascertain the coagulation temperature of a proteid. (This fact is of some importance in view of the statements which have been made as to the lethal effect of a temperature of 85°C.)

These experiments were repeated in 1911 with naturally infected milk obtained from the tuberculous udder of a cow. This milk was highly pathogenic when fresh, 0,2 gramme of it being capable of producing in 15 days a tuberculous ulcer at the seat of inoculation, well marked tuberculosis of the popliteal, superficial and deep inguinal, sublumbar and renal lymphatic ganglia corresponding to the leg inoculated and distinct tuberculous lesions of the retrohepatic, bronchial, suprascapular ganglia and of the spleen, liver and lungs.

Some of that milk was divided into 2 parts, one of which was kept for control experiments and the other heated in a steam jacketted copper pan, provited with a stirrer by means of which the milk was kept in constant motion, the temperature of the fluid was recorded by means of a well tested and controlled recording thermometer during the experiment. In the course of 8 minutes the temperature rose from 58°C. to 78°C., and was for 4 minutes above 68°C. A sample of that milk was collected as soon as the temperature had reached 78°C. The same milk was heated for 10 minutes more, the temperature rising gradually to 92°C. when a second sample was taken.

3 sets of cobayes were inoculated subcutaneously with the original milk and with the same milk after it had been heated to 78°C. and 92°C. respectively. The quantity of untreated milk inoculated was 1 cc. ; the quantity of treated milk was very much larger, the sediment of 40 ccs. obtained by centrifugalisation being used. The animals inoculated with these samples were examined frequently during life and the lesions recognisable by inspection and palpation noted. After the death of the animals they were dissected carefully and the various organs examined for tubercle bacilli.

The following summary gives the results of the observations made.

	GROUP I — CONTROL UNHEATED	GROUP II — MILK HEATED TO 78°	GROUP III — MILK HEATED TO 92°
End of 1st week.	No distinct lesions except slight swelling at seat of inoculation.	No distinct lesions except slight swelling at seat of inoculation.	No distinct lesions except slight swelling at seat of inoculation.
End of 2nd week.	Well marked subcutaneous nodule beginning to ulcerate at seat of inoculation. Distinct swelling and induration of inguinal ganglia.	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 3rd week.	Large subcutaneous indurated nodule and distinct ulcer at seat of inoculation. Superficial inguinal very large and indurated.	No trace of local lesion recognisable by palpation. Doubtful enlargement of superficial inguinal ganglia.	No trace of local lesion recognisable by palpation. Doubtful enlargement of superficial inguinal gland.
End of 4th week.	Ulceration spreading. Superficial inguinal ganglia very large and indurated.	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 5th week	*Ditto.*	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 6th week.	Animal dead. All lymphatic ganglia with well marked tuberculous lesions. Also tuberculosis of spleen, liver and lungs.	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 7th week.	....	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 8th week.	....	*Ditto.*	*Ditto.* + doubtful subcutaneous induration.
End of 9th week.	....	*Ditto.*	*Ditto.*
End of 10th week.	....	No trace of local lesion recognisable by palpation. Doubtful enlargement of super inguinal ganglia.	No trace of local lesion recognisable by palpation. Doubtful enlargement of super inguinal gland.

	GROUP I — CONTROL UNHEATED	GROUP II — MILK HEATED TO 78°	GROUP III — MILK HEATED TO 92°
End of 11th week.	....	Animal killed. No local lesion. Slight enlargement of popliteal. Slight tuberculous lesions of inguinal sublumbar lymphatics and spleen. Tubercle bacilli found in all these lesions.	Animal killed. Slight local lesion, no ulceration. Inguinal and sublumbar glands very slightly enlarged, a few tubercle bacilli in above lesions. Other lymphatic ganglia, spleen, liver, lungs were the seat of extensiv tuberculous lesion containing many tubercle bacilli.

Another group of experiments was conducted in which thin layers of milk were heated and evaporated at the same time. The temperature of the milk was raised from about 12°C. to 98°C. in less than 3 minutes, the material not being kept at the higher temperature for more than 3 seconds.

*
* *

The results of inoculation were practically the same as in the previous experiments. A cobaye, killed 5 weeks after inoculation, *i. e.* at a time when some indication of inguinal swelling had begun to be noticeable, was found to have very slightly enlarged popliteal inguinal and sublumbar lymphatic ganglia, tubercle bacilli being demonstrable in each. There was no sign of any lesion at the seat of inoculation. The lesions were similar to those observable from 8 to 10 days after inoculation with unheated milk.

The two last sets of experiments may be summed up as follows :

1. Cobayes inoculated with untreated tuberculous products rich in bacilli, developed at the seat of inoculation extensive tuberculous lesions in 2 weeks

2. Cobayes of the same size and kept under identical conditions as the last, after being inoculated with a much greater quantity of the same tuberculous products previously heated as stated above, developed very slight lesions at the seat of inoculation in the course of 11 weeks.

3. The viscera and the majority of the lymphatic ganglia of the cobayes inoculated with the untreated tuberculous products, were the seat of extensive tuberculous lesions 6 weeks after inoculation.

4. In the cobayes inoculated with the heated tuberculous products, the viscera and lymphatic ganglia were affected nearly to the same extent as those of the cobayes inoculated with the untreated material, but this result was obtained after 11 weeks only.

5. From these results it would appear that the heated bacilli were at first barely capable of overcoming the resistance offered to them by the phagocytes in the region first infected, but that some bacilli had escaped and had been carried away probably by some of the migratory cells. These bacilli had been able to multiply and to regain their pathogenic power.

6. The facts observed seem also to indicate that the recuperation of this pathogenic power became more marked as the distance from the seat of inoculation increased, for, while the local lesions remained insignificant, those of distant organs were practically as extensive as those found in the animals inoculated with untreated milk.

7. The relation between the extent of the tuberculous lesions and the distance from the seat of inoculation, indicates that the bacilli which had successfully overcome the various obstacles offered to their progress, had gradually become not only more numerous but also more virulent. This suggests strongly a process of *reinforcement of virulence by relays*, similar to that observed in the production of a "Virus fixe" by passage through a series of animals according to Pasteur's method.

8. In the experiments referred to in this paper, the period of latency did not exceed 3 or 4 weeks, but it was sufficiently long to reveal an aspect of infection processes which must be

of great importance, more specially in relation to latent infections.

9. The fact that tubercle bacilli were still living and capable of a modified pathogenic action after being kept for nearly 500 days in a natural tuberculous product (milk), supports the view that under certain circumstances tubercle bacilli are still infective after remaining dormant for a considerable period of time.

NOUVELLES RECHERCHES SUR LA CONTAGION DE LA TUBERCULOSE PAR L'AIR EXPIRÉ PENDANT LA TOUX

par le Dr P. CHAUSSÉ.

Dans divers mémoires publiés successivement depuis 1909, nous nous sommes proposé d'étudier les conditions spéciales de la contagion de la tuberculose par les voies respiratoires.

Ayant d'abord analysé et commenté tous les travaux originaux de Cornet, de Flügge et de leurs élèves ou collaborateurs (1), nous avons constaté que ni l'un ni l'autre de ces expérimentateurs n'ont édifié sur des bases scientifiques satisfaisantes leurs conceptions respectives.

Le premier incriminait exclusivement, ou presque, la contagion par les particules sèches issues des crachats disséminés par le malade. Mais il ne donnait à l'appui de cette opinion, d'ailleurs plausible et sans doute exacte au moins en partie, devait-on penser alors, que des recherches démontrant la virulence des poussières dans les chambres de phtisiques, et une seule expérience de brossage de crachats secs, en présence de cobayes qui devinrent tuberculeux.

Dès ce moment même, plusieurs objections devaient être faites à la thèse du savant médecin allemand.

Il convenait de remarquer d'abord que la virulence des poussières, constatée par lui, dans une partie des chambres de malades, pouvait également provenir de l'émission de particules liquides, pendant la toux ou la parole, ainsi que Flügge le prétendit dix ans plus tard, ces particules liquides pouvant se

(1) P. Chaussé, La contagion de la tuberculose par les particules sèches. Histoire et critique de la théorie de Cornet. *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, du 20 avril 1913.
P. Chaussé, La contagion de la tuberculose par les particules liquides. Histoire et critique de la théorie de Flügge. *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, du 20 juin 1913.

déposer peu de temps après leur projection dans l'air, se dessécher, se pulvériser et rester dangereuses pendant une longue période. La vitalité du bacille dans les crachats secs, déterminée par nous depuis peu, était alors supposée fort longue ; elle est en tout cas suffisante pour que cette objection doive être faite.

En second lieu, Cornet infectait des cobayes dans des conditions particulièrement favorables, en brossant sur un tapis, *avec un balai rude*, une grande quantité de crachats desséchés pendant deux jours. Il est certainement arbitraire d'identifier ces conditions avec celles de la contagion naturelle sans pousser plus loin les investigations à ce sujet. Cette identification nous apparaîtra encore plus douteuse lorsque nous aurons rappelé qu'un an avant Cornet, en 1887, Cadéac et Mallet (1) échouaient, au contraire, dans leurs tentatives d'infection du cobaye, avec les crachats secs, à forte dose également, et réussissaient toujours avec le crachat frais et dilué, puis pulvérisé à l'état liquide. Ces deux auteurs français concluaient que le crachat frais et dilué est incomparablement plus dangereux, au point de vue de la contagion, que le crachat desséché.

Malgré l'invraisemblance, et ne possédant aucun commencement de preuve, l'auteur allemand se déclare néanmoins partisan de la transmission naturelle de la phtisie par les poussières issues des crachats desséchés, conclusion qui n'était pas scientifiquement possible. Il conclut ainsi parce que, malgré tout, il fallait bien expliquer la contagion par inhalation ; la contagion par les gouttelettes n'étant pas alors envisagée, il était indiqué, quels que fussent les résultats expérimentaux, d'incriminer les poussières de crachats qui semblaient être la seule forme respirable du virus. Sa doctrine ainsi émise par voie d'exclusion, Cornet la défendit plus tard contre les attaques de l'École de Flügge ; mais il n'apporta depuis cette époque aucune nouvelle expérience qui en établît le bien-fondé. C'est nous qui en démontrerons l'exactitude vingt-cinq ans plus tard, sans exclure toutefois la contagion par les particules liquides.

De nouveau, en 1905-1907, la théorie de Cornet fut sérieuse-

(1) Cadéac et Mallet, Sur différents modes de transmission de la tuberculose. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 12 juin 1887 ; *Congrès contre la tuberculose*, 1888, p. 310.

ment attaquée par Peterson (1), d'une part, et par Cadéac (2), d'autre part. Ces deux auteurs, ayant procédé à des épreuves d'inhalation de crachats desséchés, à doses fort élevées, n'obtinrent presque que des résultats négatifs. C'est pourquoi, au Congrès de 1905, Cadéac formula l'avis que les poussières de crachats sont inertes, lorsqu'elles sont devenues mobilisables par suite de la dessiccation prolongée. Hâtons-nous de dire, cependant, que Cadéac n'avait procédé à aucune recherche sur la vitalité du virus dans les crachats secs, et que l'assertion ainsi émise n'était pas basée sur des documents probants. Mais, en considérant seulement les résultats négatifs obtenus malgré l'inhalation de grandes quantités de poussières de crachats, tant par Cadéac que par Peterson, on est amené à croire que ces poussières, si elles se forment dans les conditions ordinaires de la vie familiale, sont inoffensives; c'est là le sens des conclusions formulées par le professeur Cadéac; il en résulte que la manière de voir de Cornet ne semble plus défendable.

En 1897, Flügge, ayant pensé à la possibilité de la formation de particules liquides très fines dans les voies respiratoires supérieures et surtout dans la bouche, au niveau des lèvres, crut devoir combattre la doctrine hypothétique de Cornet et proposa au monde médical la théorie non moins exclusive de la contagion par les gouttelettes de salive ou de crachats formées, suppose-t-il, pendant la toux, la parole ou le chant. Chose surprenante encore, cet auteur ne s'appuie que sur des résultats d'expériences faites avec le *B. prodigiosus*; il n'a personnellement réalisé aucune expérience d'inhalation de virus tuberculeux! Ce furent ses élèves, peu expérimentés, semble-t-il, qui, dans les années suivantes, après la publication de la thèse de la contagion par les gouttelettes, ou, plus exactement, de l'hypothèse, firent quelques expériences peu ou pas démonstratives avec des crachats tuberculeux et avec des malades. L'ordre normal des faits fut ainsi renversé.

(1) Peterson, Cité par Kuss, dans le *Bulletin médical*, du 5 août 1908, et par Bang, au Congrès contre la tuberculose, tenu à La Haye, en 1909. Nous n'avons trouvé nulle part l'indication bibliographique relative à ce travail de Peterson, qui n'a peut-être pas été publié.

(2) Cadéac. Infection par les voies respiratoires. *Congrès contre la tuberculose*, Paris, 1905, vol. I, p. 411; et *Journal de médecine vétérinaire*, d'octobre 1905.

A la lecture des travaux des élèves de Flügge, on constate à diverses reprises que les conclusions ne sont pas conformes aux résultats expérimentaux ; ces jeunes expérimentateurs, ayant à charge de confirmer les idées publiées par leur maître, forcent visiblement leurs conclusions dans le sens qui lui est favorable. D'autre part, si nous analysons successivement les travaux de cette école, nous n'y trouvons nulle part ce que l'on doit appeler *la preuve expérimentale* de la transmissibilité de la tuberculose par les particules liquides. Parmi ces recherches, les plus importantes sont celles de B. Heymann, élève de Flügge, mais nous répétons qu'elles ne sont pas probantes, loin de là (1), et nous prions le lecteur de se reporter, s'il le désire, soit à ces travaux originaux de B. Heymann, soit à l'analyse et à la critique que nous avons publiées de la doctrine de Flügge (*Revue d'hygiène et de police sanitaire*, du 20 juin 1913).

Après Cornet et après Flügge, et leurs élèves, le problème de la contagion tuberculeuse restait donc tout entier à élucider. Et cela nous est démontré, d'autre part, en ce que, postérieurement aux travaux de ces deux auteurs, la théorie de la transmission par les voies digestives a pu momentanément, de 1905 à 1910 environ, faire oublier celle de la transmission par inhalation, laquelle cependant a, de beaucoup, le premier rôle chez l'homme et le bœuf, d'après nos recherches personnelles, publiées depuis 1909 jusqu'à ce jour.

Il est superflu d'ajouter que les thèses de Cornet et de Flügge ne s'excluent en aucune façon, tout au moins sur la base des travaux parus jusqu'ici.

Sans nous en dissimuler les difficultés, nous avons essayé de résoudre ce problème dont la solution doit servir de base à la prophylaxie antituberculeuse, méthode de l'avenir dont il faut, selon nous, attendre les meilleurs résultats.

Il convient de rechercher, séparément et successivement, les possibilités de transmission par les crachats secs et par les crachats frais, tels qu'ils sont expectorés, et d'apprécier le danger de contagion auprès du malade. C'est à ce travail que nous avons consacré tout notre temps depuis quelques années.

(1) B. Heymann, *Zeitschrift für Hygiene*, 1899, 1901 et 1908 ; vol. 30, 38 et 60.

Et voici quelles ont été les étapes principales de nos acquisitions, d'abord en ce qui concerne le virus desséché :

Premier point. — *La vitalité du bacille tuberculeux dans les crachats desséchés dans les conditions de l'appartement est de* 10 *à* 25 *jours si on fait l'épreuve par inhalation, de* 30 *à* 60 *jours si on procède par inoculation sous-cutanée au cobaye* (*Académie des Sciences*, 26 août 1912; *Revue de la tuberculose*, 5 octobre 1913).

Deuxième point. — A la limite de la virulence par inhalation, et à partir du 10e jour environ par inoculation sous-cutanée, *le bacille donne des tuberculoses atténuées, à évolution ralentie*, avec de faibles lésions viscérales et avec une caséification plus ou moins incomplète des tissus (*Revue de la tuberculose*, 5 février 1914).

Par conséquent, dans la contagion naturelle, d'après ces deux résultats, nous pouvons dire que *la vitalité du virus est suffisante dans les crachats secs pour assurer la transmission*, si d'autres conditions nécessaires interviennent : fragmentation et mobilisation du virus dans l'atmosphère, sous forme de particules respirables.

De plus, la faculté d'obtenir des tuberculoses atténuées, par inhalation de virus sec, peut expliquer les modalités cliniques, aiguës, subaiguës ou chroniques, de la maladie spontanée.

Troisième point. — Nous avons démontré expérimentalement, ce qui n'avait pas été fait jusqu'ici de manière satisfaisante et probante, que *les conditions mécaniques agissant couramment dans la vie familiale* (*brossage, agitation de linges souillés, froissements divers de tissus souillés*), *sont parfaitement suffisantes pour fragmenter le crachat sec en particules respirables qui infectent l'atmosphère* (*Académie de Médecine*, 20 mai et 22 juillet 1913).

Quatrième point. — A cette démonstration dont on peut déjà tirer des conclusions pratiques très importantes, nous avons ajouté la suivante : *le mouchoir du tuberculeux, pris sous son oreiller, sans aucune préparation spéciale, tel qu'il est utilisé par les malades, est apte à transmettre la maladie pendant une vingtaine de jours* au plus, mais cette aptitude est décroissante du 1er au 20e jour. Le danger de contagion par ce linge est démontré en l'agitant quelques instants en présence de cobayes,

dans une caisse; *ces cobayes contractent ainsi une tuberculose de type respiratoire* (Ces *Annales*, septembre et octobre 1914),

Cinquième point. — *Les cobayes séjournant dans des chambres de phtisiques, pendant la réfection des lits, et en l'absence des malades sortis depuis la veille au soir, contractent la tuberculose, évidemment par inhalation des poussières mobilisées*; les lésions de ces cobayes sont de *type respiratoire* (Ces *Annales*, 1914).

Sixième point. — *L'inoculation des poussières recueillies dans les chambres de tuberculeux, a communiqué la tuberculose au cobaye dans plus du tiers des cas* (Ces *Annales*, 1914).

La virulence des poussières avait été constatée par Cornet; nous la confirmons en ajoutant que *les cobayes ainsi infectés ont des lésions à évolution ralentie*, indiquant que le virus est atténué et, par conséquent, a subi une dessiccation de quelque durée; il s'agit donc de particules bacillaires desséchées depuis quelques jours, et non de gouttelettes virulentes fraîchement émises.

Septième point. — *Des épreuves de cohabitation de cobayes avec des malades contagieux nous ont démontré la contagiosité extrême de la maladie*; dans une expérience, notamment, nous avons obtenu l'infection par inhalation de 15 cobayes sur 19 après un mois de cohabitation, les cobayes étant au pied des lits, à 3 mètres environ de la bouche des malades (Ces *Annales*, 1914).

Ces résultats positifs peuvent être dus à la fois aux particules sèches et aux gouttelettes. Contre ce dernier mode d'infection, nous remarquons cependant que *les résultats positifs n'ont pas été plus nombreux, mais au contraire moins nombreux lorsque les cobayes séjournaient plus près de la bouche des malades, à* 80 *centimètres ou* 1 *mètre seulement.*

Constatant ainsi que la tuberculose est plus contagieuse que cela n'est admis jusqu'ici, cela nous engage à rechercher si cette contagion est le fait du virus frais ou du virus desséché, et nous montre l'intérêt de cette recherche.

Ces diverses acquisitions établissent définitivement trois conclusions :

1° *La transmissibilité de la tuberculose par les particules provenant des crachats desséchés* dans les conditions de l'appartement; le virus sec s'est montré d'une activité extrême, jusqu'ici

insoupçonnée, au point que le professeur Cadéac croyait à l'innocuité des crachats secs spontanément pulvérisés.

2° *La haute contagiosité de la tuberculose dans les conditions ordinaires de l'entretien des malades.*

3° *La contagiosité de la tuberculose* PAR INHALATION *dans la cohabitation avec le tuberculeux humain, et, par conséquent, l'origine respiratoire de la phtisie humaine.* Cette origine respiratoire, tant discutée, est ainsi démontrée exacte expérimentalement.

En effet, *tous nos cobayes devenus tuberculeux dans ces conditions ont été infectés par inhalation, car ils présentent des lésions du type respiratoire le plus net*, telles que nous les avons obtenues maintes fois et les obtenons à volonté, avec une précision aussi rigoureuse qu'il est nécessaire, et sans aucune chance d'erreur, par pulvérisation de virus tuberculeux frais ou desséché, en répandant dans une atmosphère limitée des particules virulentes.

Sans nous préoccuper pour le moment de savoir s'il s'agit de gouttelettes ou de poussières, nous pouvons affirmer que ces expériences prouvent que l'atmosphère de l'appartement du tuberculeux est chargée de bacilles ; or, une atmosphère virulente infecte par inhalation et non par ingestion.

Dans la même atmosphère infectante, nous avons constaté que les diverses espèces sont infectées simultanément et pareillement, par inhalation. Il est superflu d'ajouter que l'espèce est indifférente, quant au mode d'infection réalisé, et que ce sont des conditions purement physiques et passives qui déterminent l'accessibilité du poumon aux particules en suspension dans l'air. Les particules respirables n'ont que 2 à 20 μ environ. Dans l'appareil respiratoire de l'homme et des animaux, les dimensions relatives des conduits les plus fins sont peu différentes, et il n'y a aucun dispositif chez l'homme, ni chez aucune autre espèce, qui puisse réaliser une filtration de l'air inhalé, séparer les particules respirables et pathogènes, et empêcher leur accès aux alvéoles pulmonaires.

C'est pourquoi nous pouvons conclure que *l'être humain sain qui séjournera dans le voisinage d'un tuberculeux, qui respirera cette atmosphère contenant des bacilles, sera nécessairement infecté par inhalation*, et avec d'autant plus de certitude que

cet être humain inhale de 30 à 250 fois plus d'air que le cobaye. *Les résultats obtenus avec le cobaye sont aussi probants à l'égard de la contagion naturelle, que si nous avions opéré avec des hommes comme sujets d'expérience.*

Enfin ces résultats paraîtront d'autant plus démonstratifs qu'*ils sont confirmés par les documents nécropsiques*, lesquels démontrent que *l'homme et l'enfant présentent*, *dans la règle*, *une tuberculose de type respiratoire tout comme nos cobayes ayant cohabité avec des tuberculeux humains.*

Ainsi est donnée *la preuve expérimentale de l'origine respiratoire habituelle de la phtisie humaine.*

*
* *

Il reste à apprécier, comparativement avec ce qui précède, le rôle des particules liquides; c'est là la dernière partie sur laquelle portent nos investigations.

D'un grand nombre d'expériences cependant variées, mais avec résultats généralement négatifs, qui ont consisté :

1° A faire tousser des malades en face de boîtes de Petri découvertes contenant un liquide stérile qui fut ensuite inoculé à des cobayes;

2° A faire passer de l'air à vitesse variable dans des crachats tuberculeux et à faire respirer cet air par des cobayes;

3° A faire tousser des tuberculeux cavitaires dans un pavillon conduisant dans une caisse de 86 litres contenant des cobayes.

Nous avions cru devoir conclure que le rôle des particules liquides directement projetées pendant la toux du malade nous paraissait très restreint, et que la contagion a lieu uniquement, ou presque uniquement, par les particules sèches libérées des crachats pendant les 20 premiers jours environ de leur dessiccation.

C'est sur cette dernière conclusion que nous désirons revenir aujourd'hui, car de nouvelles expériences relatives aux particules liquides, qui sont un perfectionnement de la principale épreuve ci-dessus, nous imposent de la modifier.

*
* *

Depuis notre dernière publication sur la contagion tuberculeuse (*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre et octobre 1914), un doute était né dans notre esprit à propos de nos expériences d'inhalation directe par le cobaye, de l'air expiré par des tuberculeux au moment de la toux. Comme nous attachions une grande importance à cette partie de nos recherches, nous décidâmes de refaire ces expériences, bien qu'elles fussent déjà nombreuses, en perfectionnant la méthode employée. Rappelons plus explicitement, en quelques mots, quelles ont été ces expériences, et nous ferons ensuite comprendre pourquoi nous avons décidé de les répéter dans des conditions plus sévères et plus démonstratives.

Notre caisse de 86 litres était de forme prismatique et rectangulaire : longueur, 60 centimètres; largeur, 40 centimètres; hauteur, 36 centimètres (1). Elle pouvait contenir aisément une cage avec 8 ou 10 cobayes de bonne taille, ou 14 cobayes de 3 à 4 mois environ.

Cette caisse était percée à l'un des bouts, dans la région supérieure, d'un trou rond de 7 centimètres de diamètre, dans lequel était soudé un tube très court portant extérieurement un pavillon en forme d'entonnoir, large de 20 centimètres à son ouverture extérieure par rapport à la caisse.

A la même extrémité, sur une autre ouverture, était adapté un tube plus étroit, de 25 millimètres environ de diamètre, dit tube de décompression. Lorsque le malade toussait dans le pavillon même, en face de l'ouverture de 7 centimètres donnant dans la caisse, l'air venant des poumons pénétrait en partie dans cette caisse, et, comme il ne pouvait évidemment y rester comprimé, il en chassait aussitôt, par le tube de décompression, une quantité d'air intérieur égale à celle introduite par la toux. En mettant une flamme en face du tube de décompression, extérieurement, on constatait qu'à chaque mouvement de toux cette flamme était soufflée vigoureusement et souvent éteinte.

Pendant les expériences, les cobayes placés dans la caisse inhalaient ainsi *un air mélangé avec l'air expiré par le tuberculeux* ; la richesse de l'air de la boîte, en gaz venant des voies respiratoires du malade, augmentait de plus en plus, à chaque effort de toux, du début à la fin de l'expérience. Finalement, après environ 100 à 150 efforts de toux, l'air de la caisse était constitué en grande partie, sinon en totalité, par celui venant des poumons des malades. Dans les 8 expériences faites avec cet appareil, les malades ont toussé : 30, 50, 100, 150, 167, 250, 320 et 503 fois.

Dans la recherche du danger de contagion par les particules liquides c'était bien là l'expérience critère qu'il fallait réaliser,

(1) Voir *Annales de l'Institut Pasteur*, 30 juillet 1914, 2e mémoire (fig. 5).

et personne ne l'avait faite, tout au moins dans de bonnes conditions; notre méthode était de beaucoup préférable à tout ce qui avait été fait dans ce sens par nos prédécesseurs, mais nous allons constater cependant qu'elle ne nous donna pas de résultats satisfaisants pour cet ordre de recherches.

B. Heymann (1) avait exposé des cobayes à une distance de 25 à 40 centimètres de la bouche de phtisiques, mais à l'air libre, et de telle sorte que ces cobayes pouvaient inhaler simultanément toutes les particules sèches venant des malades ou de leur lit; néanmoins, cet auteur conclut, sans y être nullement autorisé, en faveur de la transmission par les particules liquides pour la raison qu'il a obtenu dans ces conditions l'infection de quelques sujets. Or nous avons traduit le travail original de B. Heymann et constaté qu'en outre, pour plusieurs des cobayes considérés comme tuberculeux, l'infection était douteuse.

Cadéac et Mallet (1887) avaient fait inhaler par des lapins de l'air expiré par des phtisiques : les résultats furent entièrement négatifs. Mais l'air ainsi donné en inhalations au lapin était recueilli dans des ballons de caoutchouc qu'on remplissait seulement à moitié, et dont on achevait le remplissage avec de l'air atmosphérique pur. D'autre part, cet air venant du malade était celui expulsé dans la respiration calme, normale, ce qui ne permet aucune conclusion à l'égard de l'air expiré pendant la toux et ne renseigne, par conséquent, aucunement sur le danger de contagion. Dans la toux, en effet, les crachats sont agités et entrent en contact intime avec l'air: les conditions sont toutes différentes de celles de la respiration normale. Enfin, durant le transport des sacs de caoutchouc contenant l'air suspect, les particules qui auraient pu se trouver dans l'air avaient le temps de se déposer et l'air de se purifier. Aucune conclusion, fondée sur ces résultats négatifs, n'était donc possible en ce qui concerne l'émission de particules liquides.

Or, *si le malade émet des particules liquides fines pouvant être inhalées, il est évident que le seul moyen de le savoir est de faire inhaler* IMMÉDIATEMENT, *par le cobaye, l'air expulsé au moment de la toux*; mais, pour éviter la cause d'erreur venant du malade, il faut recueillir cet air dans un récipient, à sa sortie des voies respiratoires et empêcher les animaux d'expériences d'inhaler les poussières venant du malade, de son linge, de son lit ou de la chambre dans laquelle on opère. Nous disons que l'*inhalation d'épreuve doit être immédiate* parce qu'il est fort possible que lesdites particules, si elles existent, se déposent en quelques minutes, ou même en quelques secondes.

Avec la caisse à inhalation plus haut décrite, *nous avons*

(1) B. HEYMANN. *Zeitschrift für Hygiene*, 1899, vol. 30, p. 139.

effectué 8 expériences dans lesquelles, au total, 12 phtisiques, choisis parmi les plus contagieux, ont toussé 1.570 fois dans le pavillon de la boîte; 79 cobayes, en 8 séries, ont été soumis à l'inhalation directe de l'air expiré par ces malades pendant la toux; sur ce nombre d'animaux, un seul a contracté un tubercule pulmonaire primitif.

Sans être affirmatif, nous fûmes porté à admettre que cet unique cas d'infection était dû à une particule sèche venant de l'un ou de l'autre de nos malades, et cela avec d'autant plus de raison, que nos autres résultats expérimentaux étaient négatifs pour la plupart en ce qui concerne les gouttelettes.

Nous avons cru devoir recommencer ces expériences, — et, en cela, la suite démontre que nous eûmes grandement raison, — parce que *la quantité d'air inhalé, venant du malade et rentrant dans notre caisse à inhalation, à chaque mouvement de toux, était indéterminée.* L'introduction d'air était bien certaine, mais nous ignorions la proportion qui, à chaque fois, se substituait à une quantité égale d'air de la caisse, pour vicier celui-ci progressivement, et peut-être pour le rendre infectant. Il faut dire, d'autre part, que nous ne savions pas ce que nos malades consentiraient à faire sur nos indications et que ce fut là une raison pour laquelle nous fûmes porté à faire ces expériences d'une manière aussi anodine que possible, ce qui, en cette circonstance, en a modifié sensiblement les résultats.

Cela étant connu, voici le nouveau *modus faciendi* et les résultats de 18 nouvelles épreuves d'inhalation de l'air expiré par le malade pendant la toux.

*
* *

Notre nouvelle caisse à inhalation, que nous appellerons caisse 16, est d'une capacité de 16 lit. 500 : longueur, 30 centimètres; largeur, 29cm5; hauteur, 18cm7.

Mais, pendant l'expérience, cette capacité est réduite en réalité à 10 litres au plus, par le fait que nous mettons dans cette caisse de 7 à 12 cobayes d'environ 500 grammes; la capacité se trouve encore réduite par une gorge rectangulaire nécessaire pour la fermeture hermétique, par un petit plancher en grillage de fil de fer sur lequel sont les cobayes, par un plateau rectangulaire contenant de la glace en partie fondue (fig. 2), et qui, à lui seul, représente au moins 500 cent. cubes.

Comparée à la caisse de 86 litres utilisée précédemment, la caisse 16, prête pour chaque expérience, a une capacité d'air respirable inférieure à

10 litres, soit 8 fois moins que la première, car celle-ci contenait environ 80 litres d'air respirable.

La première modification est donc une réduction de capacité, d'où il résulte qu'en peu de temps, les cobayes exposés inhaleront, à l'état de pureté, l'air rejeté par le malade.



Fig. 1. — Photographie du dispositif employé pour ces nouvelles expériences d'inhalation de l'air expiré pendant la toux. (Exp. V et VIII ; malade Tei..., dix-sept ans). Le malade tousse dans un gros tube de verre adapté sur le tube de caoutchouc ; l'air expiré rentre dans la caisse, se mélange à l'air y existant et en chasse par l'ouverture inférieure, ou de sortie, une quantité équivalente à celle introduite. E, orifice d'entrée de l'air; S, orifice de sortie ; V, verre destiné à recevoir les expectorations qui seront examinées après l'expérience. 1, 2, 3, 4 : flèches indiquant le chemin parcouru par l'air expiré.

La seconde modification concourt au même but : au lieu de tousser dans un pavillon, le malade tousse dans un tube de verre de 30 millimètres environ de diamètre ; il pose ses lèvres sur l'ouverture de ce tube de verre au moment où il se prépare à tousser. Le tube de verre se continue par un tube de caoutchouc, de 35 centimètres environ de longueur, adapté sur un

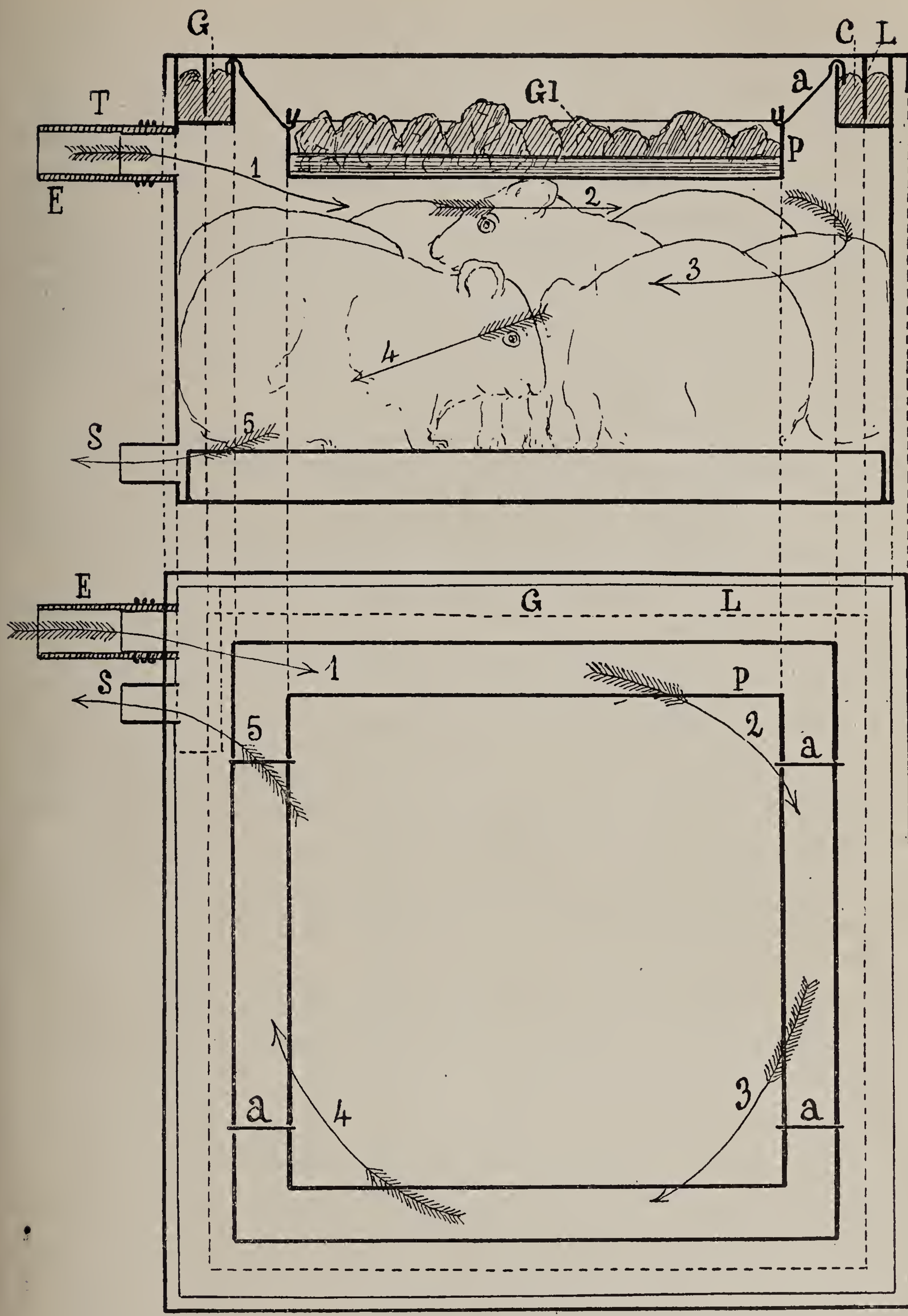


Fig. 2. — Schéma de la caisse 16 à inhalation, en élévation et projection sur un plan horizontal. Cette figure montre que l'air projeté par le malade décrit dans la caisse un circuit à hauteur des narines des cobayes ; les conditions semblent donc excellentes pour cette épreuve ; E, tube d'entrée de l'air ; S, tube de sortie ; G, gouttière de fermeture remplie de coton non hydrophile ; C, coton ; L, lame métallique appuyant sur le coton ; P, plateau à glace ; Gl, glace ; *a*, attache-support du plateau de glace ; 1, 2, 3, 4, 5, flèches indiquant la direction du courant aérien.

tube métallique très court, de 22 millimètres environ de diamètre, qui s'ouvre dans la caisse à inhalation, à la partie supérieure et sur le côté.

Lorsque la toux s'annonce, le malade porte le tube de verre à ses lèvres, comme on y adapte l'embouchure d'un instrument à vent en cuivre, mais avec cette différence que, le tube de verre étant large, l'air projeté par la toux pénètre directement, sans résistance et en totalité, dans la caisse 16.

D'après son point de pénétration et sa direction horizontale, nous pouvons déduire que l'air introduit à chaque effort de toux décrit un tour complet de la caisse en se mélangeant à l'air y contenu, et provoque la sortie, par un tube de décompression *S*, placé en bas, du côté du malade, d'un volume d'air égal à celui expiré et introduit dans la caisse. A chaque toux, l'air nouveau arrive un peu au-dessus ou à hauteur de la tête des cobayes, condition éminemment favorable pour ces expériences.

Pendant le temps de l'expérience, un verre placé à la gauche du malade est à sa disposition pour cracher; les crachats sont ensuite examinés sur tout quant à leur teneur en bacilles. Bien entendu, cet examen a déjà été pratiqué antérieurement, et tous les malades utilisés ici sont choisis parmi les plus riches en bacilles et les plus contagieux; ce nouvel examen est fait uniquement à titre de contrôle et pour plus de certitude.

Les 8 à 12 cobayes employés à chaque fois ont tout juste la place indispensable. L'air de la caisse est saturé d'humidité, d'une part par la respiration des cobayes, d'autre part par l'air venant des poumons des malades, et enfin par la fonte de la glace placée dans le plateau, à la partie supérieure. Cette glace est ajoutée pour que les cobayes ne soient pas incommodés par la chaleur humide; car, à défaut de cette précaution, l'air intérieur de la caisse serait porté rapidement à 37-39° et s'y maintiendrait sans doute.

Dans ces expériences, nous avons généralement fait tousser un seul malade pour chacune, mais parfois aussi 2 et 3 malades successivement. Étant donnée la capacité restreinte de la caisse 16, et sachant qu'à chaque toux un malade expulse de 500 cent. cubes à 1 litre d'air, et quelquefois 1.200 cent. cubes, le gaz intérieur atteint rapidement une grande richesse en air expiré par le malade; après 20 à 30 efforts de toux, on peut considérer que l'air intérieur respirable se compose uniquement de l'air venant des poumons du malade et ayant pris contact, *dans les conditions naturelles*, avec les mucosités bacillaires, pendant la toux.

Ces expériences ont été faites, d'une part, avec 13 malades choisis parmi les plus contagieux du service de notre excellent maître le professeur M. Letulle, d'autre part avec 8 malades de

l'hôpital civil de Versailles, appartenant aux services des Drs Laurent et Weill. Nous exprimons à notre maître, ainsi qu'aux Drs Laurent et Weill, notre sincère reconnaissance pour l'intérêt qu'ils prirent à nos recherches et le bon accueil qui nous fut toujours réservé.

Les crachats des malades employés contenaient respectivement les quantités suivantes de bacilles par milligramme de produit humide, tel qu'il est expulsé :

Hôpital Boucicaut :

Mag.	33 ans	69.000 bacilles.
Ber.	42 ans	48.500 —
Bar.	22 ans	23.000 —
Cou.	38 ans	33.700 —
Sav.	32 ans	76.000 —
Gor.	37 ans	46.500 —
Bour.	24 ans	15.000 —
Chan.	52 ans	22.500 —
Tei.	17 ans	106.000 —
Los.	66 ans	39.000 —
Dag.	26 ans	36.000 —
Mot.	38 ans	32.000 —
Mer.	33 ans	41.000 —

Hôpital de Versailles :

Chat.	19 ans	4.500 —
Laz.	37 ans	6.900 —
Trein.	42 ans	10.500 —
Som.	45 ans	5.000 —
Lem	46 ans	6.500 —
Leco.	44 ans	3.600 —
Jour.	48 ans	300 —
Bur.	42 ans	80 —

Tous ces malades étaient des phtisiques avérés, depuis longtemps, à la période d'élimination, et la plupart étaient parmi les plus contagieux. Ils présentaient diverses formes de phtisie, les plus jeunes étant atteints de formes aiguës, les plus âgés de formes fibreuses, catarrhales, emphysémateuses.

Cependant, au point de vue de la contagion, nous avons tenu à opérer avec quelques malades dont les crachats fussent relativement peu riches en bacilles, car il importe de se rendre compte du danger dans tous les cas, et non pas seulement dans ceux où ce danger est le plus grand.

Ces renseignements préliminaires généraux étant fournis, voici ce qui concerne chaque expérience en particulier, avec ses résultats.

Expérience I. — Elle est faite le 13 août 1913 avec deux malades : Mag..., 69.000 bacilles par milligramme de crachat frais ; Gor..., 46.500 bacilles. La caisse étant préparée avec 8 cobayes, le premier malade tousse 50 fois en 40 minutes ; le deuxième malade vient à son tour et tousse 156 fois ne 25 minutes. Avant d'opérer, chaque malade a eu les lèvres et la figure lavées avec du coton trempé dans une solution de sublimé tiède et, après chacun de ces malades, le tube de verre et celui de caoutchouc ont été désinfectés.

Les crachats du premier malade sont épais, purée de pois, nummulaires, peu aérés ; ceux du second, qui tousse beaucoup, par quintes, sont surtout muqueux, peu purulents, très aérés, parce que le malade est emphysémateux et a la toux fréquente.

En tout, la caisse 16 reçoit l'air chassé par 200 efforts de toux ; chaque toux donne au moins, en moyenne, 600 cent. cubes, soit en tout 123 litres d'air, chiffre qui est certainement plus faible que la réalité : pour être près de la vérité, il faudrait compter environ 800 cent. cubes par toux, mais nous préférons être en dessous du chiffre vrai, pour ne rien exagérer.

Les cobayes sont retirés de la caisse 5 minutes après que le dernier malade a cessé de tousser, ce qui fait 1 h. 10 minutes d'inhalation.

Un cobaye est mort le lendemain. Les 7 survivants ont été sacrifiés le 27 septembre, soit 45 jours après l'inhalation. Sur ce nombre, 4 cobayes étaient parfaitement sains et 3 *étaient tuberculeux*, avec des lésions de type respiratoire net, et ils présentaient respectivement 1, 1 et 2 tubercules pulmonaires primitifs. Ils avaient tous les trois de fortes adénopathies caséeuses correspondantes et des lésions récentes de généralisation, à peine visibles et faciles à distinguer des tubercules primitifs.

Dans cette expérience et toutes celles qui suivent, lorsque nous disons qu'il s'agit de tuberculose d'inhalation pure, cela signifie que les ganglions cervicaux et mésentériques ne sont pas lésés, et que l'on trouve des lésions thoraciques primitives consistant en un ou plusieurs tubercules larges de 4 à 5 millimètres environ, fortement caséeux. A cette période, de telles lésions se distinguent aisément, par leur volume, des tubercules secondaires de généralisation qui commencent à apparaître et qui sont des granulations grises ayant un demi à un millimètre. De même les adénopathies primitives correspondantes sont volumineuses et caséeuses à un haut degré, et les ganglions ont leur volume décuplé. La généralisation n'a ordinairement pas produit d'adénopathies secondaires, mais, lorsqu'il en existe, on les distingue aisément en ce que la caséification y débute à peine, tandis que, dans les adénopathies primitives, elle est très marquée.

Expérience II. — Réalisée le même jour, de la même manière, avec 8 cobayes et 2 malades; la caisse a été, au préalable, lavée avec un désinfectant dans toutes ses parties.

Les 2 malades sont : Ber..., 48.500 bacilles par milligramme, et Bar..., 23.000 bacilles par milligramme de crachats. Le premier tousse 70 fois en 45 minutes; il a des crachats peu purulents, surtout muqueux, aérés; le second tousse seulement 23 fois en 50 minutes; ses crachats sont épais, nummulaires, fortement purulents, et ils sont aisément expectorés.

Les cobayes ont inhalé en tout, pendant 1 h. 50 minutes, l'air expulsé par 93 efforts de toux, soit 55 litres d'air.

Un des cobayes périt 15 jours plus tard; il ne présente pas de lésions visibles; mais il faut 20 à 25 jours pour que des tubercules ainsi contractés commencent à être visibles.

Les 7 cobayes restants sont sacrifiés le 27 septembre 1915, soit 45 jours après l'expérience. *Sur ce nombre, 6 sont indemnes et un seul présente un tubercule pulmonaire primitif avec adénite caséeuse correspondante* volumineuse et des lésions de généralisation récente.

Expérience III. — Même dispositif avec 9 cobayes; cette expérience est faite le 14 août 1915 avec 2 malades : 1° le malade Co... (33.700 bacilles par milligramme) qui tousse 63 fois en 40 minutes; 2° le malade Sa... (76.000 bacilles par milligramme) qui tousse 67 fois en 38 minutes.

Il convient de noter que le premier, réformé sans avoir fait campagne, est atteint de laryngite bacillaire; ses crachats sont muco-purulents, épais, nummulaires. Le deuxième n'a pas de laryngite spécifique, mais il expectore des mucosités analogues.

Les cobayes ont subi l'inhalation pendant 1 h. 25 minutes; la caisse a reçu, pendant ce temps, l'air provenant de 130 efforts de toux, soit environ 77 litres d'air.

Un cobaye meurt 14 jours après et n'est reconnu atteint d'aucune lésion visible.

Les 8 survivants sont sacrifiés le 28 septembre, soit 45 jours après l'expérience. *Tous ces animaux sont atteints de tuberculose d'inhalation pure avec de fortes adénopathies pulmonaires caséeuses*, et des lésions récentes de généralisation. Le nombre des tubercules pulmonaires primitifs varie de 1 à 3, selon les sujets; nous comptons pour chaque cobaye respectivement : 1, 1, 1, 2, 2, 2, 3 et 3 tubercules primitifs, soit en moyenne de 2 par cobaye.

Expérience IV. — Exécutée aussi le 14 août 1915 avec 3 malades et 9 cobayes.

Le malade, Gor..., déjà utilisé pour l'expérience I. Ce malade tousse 210 fois en 35 minutes; après lui, le malade Bo... (15.000 bacilles par milligramme), tousse 70 fois en 30 minutes; il a la toux forte mais ne crache pas beaucoup. Enfin, le malade Cha... (22.500 bacilles par milligramme), tousse 135 fois en 29 minutes; il expulse des mucosités nummulaires et a la toux forte.

Au total les cobayes ont inhalé pendant 1 h. 45 minutes l'air provenant de 415 efforts de toux, soit environ 249 litres d'air venant des poumons de 3 malades. C'est l'expérience qui paraît la plus sévère de la série actuelle de 8, mais ce n'est pas elle qui a donné les résultats les plus alarmants; c'est la précédente.

Sur 9 cobayes exposés ici, 2 sont morts trop tôt : après 1 et 10 jours. Un

troisième est mort le 23 septembre, soit 40 jours après, et il a été trouvé sain. Les 6 derniers ont été sacrifiés le 28 septembre, soit 45 jours après l'inhalation; *parmi eux 3 étaient sains et 3 étaient tuberculeux avec lésions de type respiratoire pur*, consistant en 1, 1 et 2 tubercules pulmonaires primitifs, associés aux adénopathies caséeuses habituelles et à des lésions de généralisation au début. Cela fait 3 cobayes tuberculeux sur 7 qui ont vécu un temps suffisant après l'épreuve.

Expérience V. — Même matériel avec 8 cobayes neufs. Seul, le malade Tei..., dix-sept ans (106.000 bacilles par milligramme), est employé. Il tousse 130 fois en 56 minutes, ce qui représente environ 78 litres d'air que les cobayes ont inhalé pendant 1 h. 10 minutes; ce malade a la toux forte, quinteuse, des crachats muco-purulents et nummulaires.

Deux cobayes périssent trop tôt, après 1 et 12 jours. Les 6 autres sont sacrifiés le 3 octobre, soit 45 jours après l'inhalation. Sur ce nombre de 6, qui ont vécu un temps suffisant, *3 sont tuberculeux, chacun avec un tubercule pulmonaire primitif*, des adénopathies pulmonaires caséeuses et des lésions de généralisation récente.

Expérience VI. — Même manière d'opérer; deux malades toussent successivement. Le premier malade, Cha... (22.500 bacilles par milligramme), tousse 202 fois, par quintes, en 28 minutes; la toux est faible, et tandis qu'elle se produit, on entend l'air « gargouiller » dans les mucosités contenues dans les bronches principales ou la trachée; le crachat est muco-purulent, épais.

Le second malade, Lo... (39.000 bacilles par milligramme de crachats), vient ensuite et tousse 90 fois en 1 heure; ce malade a une moustache sale, et, en outre, une adénite sous-maxillaire. Sa toux est longue, prolongée, quinteuse; c'est un emphysémateux.

Cela fait en tout 292 efforts de toux ayant introduit dans la caisse environ 174 litres d'air que les cobayes ont inhalé pendant 1 h. 50 minutes.

Deux animaux sont morts après 4 et 5 jours; les 6 survivants ont été tués après 45 jours : *un seul cobaye était tuberculeux par inhalation* avec un tubercule pulmonaire primitif et les lésions secondaires habituelles.

Expérience VII. — Mêmes dispositions expérimentales, mais 3 malades toussent successivement. 1° Le malade Da..., sujet propre, sans barbe, toux assez forte, crachats muco-purulents, 36.000 bacilles par milligramme; il tousse 62 fois en 37 minutes. 2° Le malade Me..., petite moustache, assez propre, tousse par quintes courtes d'une toux forte; crachats nummulaires, 41.000 bacilles par milligramme; il tousse 55 fois en 32 minutes. 3° Enfin, le malade Mo..., petite barbe assez propre avec moustache; toux de force moyenne, 32.000 bacilles par milligramme de crachats; ces derniers sont muco-purulents. Le malade tousse 58 fois dans l'appareil en 26 minutes.

Cela fait en tout 175 efforts de toux ayant introduit 103 litres d'air. Les cobayes ont inhalé pendant 1 h. 42 minutes.

Un de ces cobayes est mort après 42 jours et fut reconnu sain; les 7 autres ont été sacrifiés 45 jours après l'inhalation; *ils sont également sains*. Ce résultat est donc entièrement négatif pour 8 cobayes exposés.

Expérience VIII. — Cette dernière expérience a été faite dans les mêmes conditions, mais avec un seul malade, qui est le malade Te..., utilisé pour l'expérience V. En 50 minutes, il tousse 137 fois, ce qui représente environ 82 litres d'air expiré que les cobayes inhalent pendant 1 h. 5 minutes.

Un cobaye périt après 39 jours; *il a de la tuberculose d'inhalation* avec un tubercule pulmonaire primitif. Les 7 autres sont sacrifiés 45 jours après la séance d'inhalation; *sur ce nombre, 4 sont tuberculeux comme le précédent, tous avec des lésions de type respiratoire* et de fortes adénopathies fibro-caséeuses des ganglions pulmonaires, et, en outre, avec des lésions récentes de généralisation. En somme, 5 cobayes tuberculeux sur 8 qui ont été exposés à l'inhalation de l'air expiré par ce malade.

Expérience IX. — Exécutée avec la caisse 16 et une malade de dix-neuf ans, Chat..., à la troisième période, en assez bon état général cependant, c'est-à-dire avec un peu d'embonpoint mais légèrement anémique. Cette malade tousse beaucoup et expectore 150 à 200 grammes par jour; crachats muco-purulents, nummulaires; numération : 4.500 bacilles par milligramme de produit.

Immédiatement avant l'expérience, nous lavons au sublimé tiède à 1/1.000 les lèvres, le nez, le menton et les joues de la malade.

De 10 h. 20 à 11 heures, soit en 40 minutes, la malade tousse *215 fois*, ce qui correspond à environ 129 litres d'air expulsé dans la caisse. Les cobayes inhalent 15 minutes de plus, soit en tout 55 minutes. Il y avait dans la caisse 10 cobayes dont l'un meurt trop tôt. Les 9 cobayes restants sont sacrifiés 45 jours après l'expérience; sur ce nombre *3 sont tuberculeux*, avec chacun un tubercule pulmonaire primitif et les adénopathies habituelles, plus des lésions récentes de généralisation qui existent toujours à partir du 35e jour environ.

Expérience X. — Exécutée le même jour, dans les mêmes conditions, avec la même malade. Lavage préalable du visage au sublimé à 1/1.000. 10 cobayes sont dans la caisse.

De 14 h. 15 à 15 h. 35, soit en 80 minutes, la malade tousse 316 fois, chiffre qui correspond à environ 189 litres d'air expiré. Les cobayes inhalent en tout pendant 1 h. 35. L'un d'eux périt quelques jours après. Les 9 restants sont sacrifiés 45 jours après l'expérience; *parmi eux il y a 3 tuberculeux* comme dans l'expérience précédente.

Expérience XI. — Faite de la même manière avec le malade Laz..., trente-sept ans, tuberculeux cavitaire, état général assez bon, maigre, avec figure colorée, moustaches, pas de barbe. Lavage de la moustache et des lèvres avec une solution de sublimé. Crachats assez peu purulents, aérés, contenant 6.900 bacilles par milligramme. Le malade tousse et crache modérément. 11 cobayes dans la boîte. En 1 heure le malade tousse 55 fois, par quintes de 4 à 5 efforts expulsifs; la toux est forte et l'air passe bien dans l'appareil. Les cobayes inhalent en tout 1 h. 15.

Sacrifiés 36 jours après la séance d'inhalation, les 11 cobayes sont complètement indemnes.

Expérience XII. — Elle a lieu de la même manière avec un autre malade, Tre..., quarante-deux ans, tuberculeux cavitaire; crachats muco-purulents avec salive, émis en quantité modérée. 10.500 bacilles par milligramme. Petite moustache, pas de barbe; état général : maigre, mais assez coloré. Lavage de la moustache et des lèvres au sublimé tiède. Il y a 11 cobayes dans l'appareil. En 1 h. 30 le malade tousse 83 fois, ce qui correspond à 49 litres d'air environ. En tout les cobayes inhalent 1 h. 35 minutes.

Ces animaux sont sacrifiés 40 jours après l'expérience. *Un seul est tubercu-*

leux avec une lésion pulmonaire primitive, des adénopathies caséeuses du poumon et de petits tubercules secondaires.

Expérience XIII. — Même matériel. Nous employons un malade, Som..., 45 ans, tuberculeux à la troisième période, toussant et crachant beaucoup : 350 à 400 grammes par jour; crachats muco-purulents, avec peu de salive, 5.000 bacilles par milligramme, peu aérés. État général médiocre, respiration fortement accélérée. Il tousse par quintes de 4 à 10 expirations. Petite moustache et barbe; lavage du visage au sublimé tiède. 11 cobayes dans la caisse.

En 1 h. 5 minutes le malade tousse *204 fois*. Les cobayes inhalent 1 h. 15 minutes, c'est-à-dire qu'ils sont retirés de la boîte 10 minutes après que le malade a cessé de tousser.

3 de ces cobayes meurent prématurément.

Les 8 restants sont sacrifiés 39 jours après l'inhalation et reconnus indemnes

Expérience XIV. — Mêmes conditions avec un autre malade, L. M..., quarante-six ans, à la même période de la phtisie ; tousse et crache assez peu, environ 100 grammes par jour; crachats muco-purulents, 6.500 bacilles par milligramme. Malade propre; petite moustache, barbe rasée. État général assez bon; maigre, mais coloré. 11 cobayes dans la boîte. Lavage du visage au sublimé.

En 1 h. 15 minutes, ce malade tousse *127 fois*. Les cobayes inhalent en tout 1 h. 25 minutes. 3 périssent avant le délai suffisant. Les 8 restants sont sacrifiés 39 jours après l'expérience et *reconnus indemnes de tuberculose.*

Expérience XV. — Même dispositif; la caisse contient 11 cobayes. Lavage des lèvres du malade. Le Co..., quarante-quatre ans; état général passable; moustache et barbe assez propres; il crache 100 à 125 grammes par jour; crachats purée de pois et nummulaires; il tousse par qnintes de 2 à 6 toux. Numération : 3.600 bacilles par milligramme. En 1 h. 20 minutes, ce malade tousse 143 fois; les cobayes inhalent en tout 1 h. 30 minutes. 4 d'entre eux périssent en 6 jours. Les 7 survivants sont sacrifiés 39 jours après l'expérience et reconnus sains.

Expérience XVI. — Mêmes conditions. Malade Jour..., quarante-huit ans, état passable; il crache environ 200 grammes; toux forte, par quintes de 2 à 6 ; crachats muco-purulents, nummulaires- La numération me donne seulement 300 bacilles par milligramme. 11 cobayes dans la caisse; les lèvres du malade sont désinfectées. En 1 h. 20 minutes. Ce malade tousse seulement 52 fois. Les cobayes inhalent 1 h. 30 minutes. L'un d'eux périt le lendemain; les 10 survivants sont sacrifiés 38 jours après l'expérience et reconnus indemnes.

Expérience XVII. — Mêmes conditions. Malade Bou..., quarante-deux ans, ayant eu environ 50 hémoptysies; figure colorée, assez remplie, bien musclé. Emphysémateux. Crachats mousseux, aérés, composés surtout de salive avec un peu de muco-pus. Numération : nous trouvons seulement 80 bacilles par milligramme. 11 cobayes dans la caisse. Les lèvres du malade sont lavées à l'antiseptique plus haut désigné. En 1 h. 10 minutes le malade tousse seulement *56 fois*. Les cobayes inhalent 1 h. 15 minutes. 2 d'entre eux meurent trop tôt; les 9 survivants sont sacrifiés après 38 jours et reconnus indemnes de tuberculose.

Expérience XVIII. — Mêmes conditions, avec le malade Leco,.., employé pour l'expérience XV; 12 cobayes sont dans la caisse. Les lèvres du malade sont lavées au sublimé. En 1 h. 30 minutes, ce malade tousse ensuite 72 fois. Les cobayes inhalent en tout pendant 1 h. 35 minutes. 1 d'entre eux périt trop tôt. Les 11 survivants sont sacrifiés après 37 jours et reconnus sains.

*
* *

Résumé et conclusions.

En résumé nous avons réalisé ici 18 expériences; 8 d'entre elles ont été entièrement négatives et 10 ont donné un nombre variable de résultats positifs.

Le tableau récapitulatif de la page 635 permet d'envisager tous ces résultats.

Dans l'une de ces expériences négatives, 3 malades ont toussé successivement et en tout 175 fois; leurs crachats étaient assez riches en bacilles : 32, 36 et 41.000 par milligramme. Pour les 7 autres expériences négatives, 1 seul malade avait toussé à chaque fois et ses crachats étaient plutôt peu riches en bacilles : de 80 à 7.000 bacilles environ par milligramme; il s'agit là toutefois, chez la plupart des malades, de quantités de bacilles non négligeables : 3 de ces 7 malades ont toussé beaucoup : 127, 143 et 204 fois respectivement. Pour les 4 autres expériences négatives, les malades avaient toussé seulement 52, 55, 56 et 72 fois.

Il y a 10 expériences positives ayant donné des cas d'infection, qui ont varié d'un seul cobaye à la totalité des animaux exposés. Dans une seule expérience (III), effectuée avec 2 malades, qui ont toussé 63 et 67 fois, et dont les crachats contenaient 33.000 et 76.000 bacilles, *8 cobayes sur 8* ont été tuberculisés. En dehors de l'existence d'une laryngite bacillaire chez le premier, aucun caractère particulier ne distinguait ces malades ou leurs expectorations; leur état général n'était pas particulièrement mauvais. La laryngite bacillaire de l'un d'eux a été observée dans d'autres expériences qui n'ont pas donné le même résultat, si bien que, jusqu'ici, cette localisation ne nous a pas semblé être une condition très aggravante au point de vue de la contagion; enfin, les crachats de ces malades n'étaient pas les plus riches que nous ayons observés dans ces expériences.

La raison de ce résultat très sévère dans cette expérience nous échappe; la pulvérisation bacillaire fine a sans doute été plus abondante que dans toute autre, mais nous ne saurions dire quelle a été la cause de cette abondance.

Une expérience (VIII) faite avec 1 seul malade, Tei..., de dix-sept ans, qui a toussé 137 fois, a donné 5 cobayes tuberculeux sur 8, ce qui est le quantum le plus élevé après le précédent. Ce malade avait des crachats très riches en bacilles : 106.000 par milligramme. Une autre expérience (V), avec le même malade toussant 130 fois, a tuberculisé 3 cobayes sur 6.

Quatre autres expériences (I, IV, IX et X) ont fourni 3 cobayes tuberculeux chacune, sur 7, 7, 9 et 10 animaux exposés dans la caisse. Les 2 premières ont été faites, l'une avec 2 malades qui ont toussé 206 fois (crachats : 46.000 et 69.000 bacilles), l'autre avec 3 malades qui ont toussé 415 fois (crachats : 15.000, 22.000 et 46.000 bacilles); les 2 dernières ont été effectuées avec 1 seul malade, le même pour les 2, ayant toussé 215 et 316 fois, avec crachats contenant seulement 4.500 bacilles par milligramme de produit frais.

Enfin, dans les 3 dernières expériences (II, VI et XII), 1 seul cobaye, sur 7, 6 et 11 survivants, était infecté. Pour les 2 premières, 2 malades dans chacune avaient servi; l'une avec 93 toux au total (23.000 et 48.000 bacilles), l'autre avec 292 toux (22.000 et 39.000 bacilles). La dernière était exécutée avec 1 seul malade qui toussa 83 fois (10.500 bacilles par milligramme de crachats).

Enfin, si nous totalisons les résultats, nous constatons que, pour 152 cobayes exposés, 31, ou 20,39 p. 100, ont été tuberculisés.

Dans de telles proportions, étant données les précautions que nous avons prises (désinfection de la caisse après chaque séance, lavage antiseptique du visage et surtout des lèvres et de la barbe de nos malades), aucun doute n'est possible : il s'agit réellement d'une émission de gouttelettes par le malade. Puisque les lèvres ne vibrent pas pendant la toux, et, d'autre part, puisque la vitesse de l'air est trop faible au-dessus du larynx, les gouttelettes ne peuvent se former qu'en un seul endroit : sur les cordes vocales.

TABLEAU RÉCAPITULATIF DES EXPÉRIENCES

d'inhalation par le cobaye de l'air expiré par des tuberculeux au moment de la toux.

NUMÉRO des EXPÉRIENCES	NOM DES MALADES (1)	NOMBRE DE BACILLES par milligramme de crachat humide	NOMBRE DE TOUX pendant l'expérience	QUANTITÉ D'AIR introduite DANS LA CAISSE (en comptant 600 c. c. par toux)	DURÉE de L'INHALATION pour les cobayes	COBAYES TUBERCULEUX + et COBAYES RESTÉS SAINS —	NOMBRE total des COBAYES
I . .	Mag. Gro.	69.000 46.500	50 156 } 206 toux.	30 93 } 123 litres.	1 h. 10 m.	+ + + − − − −	7
II . .	Ber. Bar.	48.500 23.000	70 23 } 93 toux.	42 13 } 55 litres.	1 h. 50 m.	+ − − − − − −	7
III . .	Cou. Sav.	33.700 76.000	63 67 } 130 toux.	37 40 } 77 litres.	1 h. 25 m.	+ + + + + + + +	8
IV . .	Gro. Bou. Cha.	46.500 15.000 22.500	210 70 135 } 415 toux.	126 42 81 } 249 litres.	1 h. 45 m.	+ + + − − − −	7
V . .	Tei.	106.000	130 toux.	78 litres.	1 h. 10 m.	+ + + − − −	6
VI . .	Cha. Los.	22.500 39.000	202 90 } 292 toux.	120 54 } 174 litres.	1 h. 50 m.	+ − − − − −	6
VII . .	Dag. Mer. Mol.	36.000 41.000 32.000	62 55 58 } 175 toux.	36 33 34 } 103 litres.	1 h. 42 m.	− − − − − − − −	8
VIII . .	Tei.	106.000	137 toux.	82 litres.	1 h. 5 m.	+ + + + + − − −	8
IX . .	Chat.	4.500	215 toux.	129 litres.	55 m.	+ + + − − − − − −	9
X . .	Chal.	4.500	316 toux.	189 litres.	1 h. 35 m.	+ + + − − − − − − −	10
XI . .	Laz.	6.900	55 toux.	33 litres.	1 h. 15 m.	− − − − − − − − − − −	11
XII . .	Trem.	10.500	83 toux.	49 litres.	1 h. 35 m.	+ − − − − − − − − − −	11
XIII . .	Som.	5.000	204 toux.	122 litres.	1 h. 15 m.	− − − − − − − − −	9
XIV . .	Lem.	6.500	127 toux.	76 litres.	1 h. 25 m.	− − − − − − − −	8
XV . .	Lec.	3.600	143 toux.	85 litres.	1 h. 25 m.	− − − − − − −	7
XVI . .	Jou.	300	52 toux.	31 litres.	1 h. 30 m.	− − − − − − − − − −	10
XVII . .	Cou.	80	56 toux.	33 litres.	1 h. 15 m.	− − − − − − − − −	9
XVIII . .	Lec.	3.600	72 toux.	43 litres.	1 h. 35 m.	− − − − − − − − − − −	11
					Totaux. . .	31 tuberculeux et 121 sains.	152

(1) Tous ces noms sont modifiés.

Remarque : Sur 152 cobayes ayant inhalé, dans ces 18 expériences, 31 sont devenus tuberculeux, soit 20,39 p. 100.

Des recherches que nous avons faites avec H. Magne, et qui sont en cours de publication (1), sur les conditions physiques réalisées dans les voies respiratoires au moment de la toux, il résulte qu'au niveau de la glotte la vitesse de l'air peut atteindre et même dépasser 40 à 48 mètres par seconde et la pression égaler 10 à 11 centimètres de mercure.

D'autre part, dans un premier travail (*Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1914) qui a consisté à faire traverser des crachats bacillaires par un courant aérien de vitesse variable, et à faire inhaler aussitôt cet air par des cobayes, nous avons constaté que la viscosité des crachats s'oppose dans une certaine mesure à leur division en particules fines; pour obtenir, avec les courants aériens, le détachement de particules respirables, il faut atteindre les vitesses de 30 à 35 mètres par seconde. Or nous constatons aujourd'hui, par l'expérience, qu'au niveau du larynx ces vitesses sont atteintes et assez largement dépassées au moment de la toux. Nous devons donc conclure que, *dans le larynx, les conditions physiques nécessaires existent, au moment de la toux, pour la formation de particules respirables aux dépens des mucosités bronchiques*; et nous en fournissons la preuve par trois méthodes : 1° en faisant barboter de l'air dans des crachats, à une vitesse connue; 2° en mesurant, par les méthodes physiologiques, la vitesse de l'air dans la trachée et le larynx; 3° en faisant tousser des malades contagieux dans une boîte métallique contenant des cobayes.

Dans notre deuxième mémoire (*Annales de l'Institut Pasteur*, août 1914), nous basant sur quelques premières évaluations de la vitesse de l'air, dans la trachée, au moment de la toux, nous avions cru que cette vitesse n'était que de 20 à 25 mètres environ, au maximum, pour le larynx, et par conséquent était insuffisante pour réaliser la pulvérisation fine des mucosités bacillaires. L'achèvement de nos recherches à ce sujet nous montre que cette conclusion doit être modifiée, de nouvelles mesures concordantes nous ayant donné la valeur maxima de 40 à 48 mètres par seconde pour la vitesse glottique.

La possibilité de la contagion par des particules bacillaires

(1) P. Chaussé et H. Magne, Contribution à l'étude de la toux et de quelques actes expulsifs analognes. Pression et vitesse de l'air. *Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, n° 3, 1916.

liquides issues des voies respiratoires du malade, pendant la toux, est donc définitivement établie.

Il est certain que les gouttelettes ainsi formées sont très fines, puisqu'elles sont immédiatement respirables, étant émises dans un air saturé de vapeur d'eau où elles ne peuvent se dessécher. D'après nos recherches avec les particules colorées cela correspond aux dimensions de 2 à 20 microns environ.

Leur nombre est vraisemblablement peu élevé, ce qui est prouvé par ce fait que nous avons eu un grand nombre de résultats négatifs en essayant de recueillir ces particules et en les inoculant. Nos recherches à ce sujet, par barbotage de l'air dans des crachats et inhalation de cet air, celles qui ont consisté dans la récolte des gouttelettes et la détermination de leurs dimensions, de leur forme et de leur nombre, nos épreuves de toux artificielle, et même les expériences d'inhalation de l'air expiré pendant la toux, faites avec la caisse de 86 litres, dont nous avons parlé au début de ce mémoire, conservent toute leur signification. Le fait que, dans cette nouvelle série de 18 expériences, nous en avons de nouveau 8 qui sont entièrement négatives, tandis que la plupart des expériences positives ne le sont que partiellement, et cela dans des conditions très sévères, ce fait, disons-nous, prouve que les particules liquides formées ne sont pas en nombre considérable. Par la toux des malades on arrive à réaliser l'infection des cobayes, mais en collectant en quelque sorte les gouttelettes dans un réservoir de faible capacité, comme notre caisse 16.

Ces résultats nous démontrent en outre que *tous les malades ne sont pas contagieux au même degré*, ce qui doit être en effet nécessairement. Sont contagieux au maximum, en général, ceux qui crachent et toussent le plus et qui ont le plus grand nombre de bacilles dans leurs expectorations. Peut-être en est-il de même de certains malades atteints de laryngite bacillaire. Toutefois les malades ne présentant qu'un petit nombre de bacilles dans leurs expectorations, quelques centaines par milligramme de crachats, doivent aussi être considérés comme dangereux dans les conditions ordinaires, à cause de la répétition des contacts.

*
* *

La conclusion pratique capitale qui se dégage de ces nouvelles expériences est qu'*à côté de la contagion tuberculeuse par les crachats secs, il existe une contagion par les gouttelettes formées aux dépens de la salive et des crachats et directement inhalées.*

Il est difficile de définir exactement la participation de chacune de ces deux sources de tuberculose par voie aérienne. Nous pouvons seulement essayer de l'apprécier par divers arguments tirés de l'ensemble de nos constatations expérimentales sur les deux formes du virus et de leur activité respective.

Avec les crachats desséchés nous avons obtenu l'infection d'une manière constante; nous avons réussi même avec une fraction de milligramme de ce produit naturel.

De plus les résultats ont été positifs dans une très forte proportion avec les mouchoirs des malades et par cohabitation de cobayes et de malades. Dans la cohabitation *nos cobayes ont été plus fortement infectés étant placés à 3 mètres qu'à 0m80 ou 1 mètre, ce qui tend à exclure l'infection par des gouttelettes venant directement de la bouche des malades.*

Enfin, les poussières reconnues virulentes ont communiqué d'ordinaire une infection à évolution ralentie, une tuberculose atténuée, qui doit être causée par un virus desséché depuis quelques jours et non par un virus inhalé à l'état frais, avant toute dessiccation.

Par comparaison nous avons vu la difficulté de pulvériser des crachats frais avec des courants d'air de vitesse inférieure à 30 mètres environ par seconde; nous avons échoué en essayant de récolter des particules liquides fines dans des boîtes de Petri placées devant le malade, au moment de la toux; nous n'avons eu que des résultats négatifs avec les épreuves de toux artificielle. Nous avons encore échoué en faisant inhaler au cobaye un air ne contenant qu'une proportion modérée de l'air expiré par des malades pendant la toux. Finalement, nous avons réussi à mettre en évidence la contagion par les particules liquides en faisant tousser les malades dans un petit récipient, de manière que les cobayes inhalent, à

l'état de pureté, l'air venant des voies respiratoires de ces malades; mais encore, dans ces conditions, y a-t-il eu un grand nombre de résultats complètement négatifs (8 sur 18) et un grand nombre de résultats partiellement positifs, à un faible degré le plus souvent (9 sur 10).

A l'égard des deux modes de contagion il faut remarquer que l'homme inhale de 30 à 250 fois plus d'air que nos cobayes, ce qui augmente les chances de contagion pour chacun de ces modes.

Dans la cohabitation avec le tuberculeux, il est exceptionnel que l'on reçoive directement dans le visage l'air de la toux du malade. De plus, lorsque des gouttelettes sont émises, elles sont diluées aussitôt dans un grand volume d'air, ce qui diminue le danger.

Ces gouttelettes se dessèchent instantanément après leur émission, et, si l'air est calme, elles commencent à se déposer pour subir une atténuation progressive qui va jusqu'à la perte de la virulence en une dizaine de jours, car elles sont de faible volume. Après leur dépôt, ces gouttelettes sont donc à prendre en considération en tant que poussières virulentes; le dépôt demande de quelques minutes à quelques heures; la perte de la vitalité exige une dizaine de jours. De cela il résulte que *les gouttelettes bacillaires elles-mêmes, comme facteurs de contagion de la phtisie, jouent la plus grande partie de leur rôle après leur dépôt et sous la forme de poussières sèches, de nouveau mobilisées dans l'atmosphère.*

Lorsque le malade ne prend pas de précautions suffisantes, ce qui est le cas général, ses effets et sa literie sont souillés par une quantité importante de matière virulente. Le brossage des effets, l'agitation des linges, la réfection des lits, opérations dont nous avons démontré le danger considérable, les divers soins du ménage (balayage, époussetage) exposent tous les jours et à tout instant les individus sains à l'infection. Les poussières restent suspendues dans l'air jusqu'à sept heures après leur mobilisation, d'après nos constatations; les courants d'air, les mouvements du malade, lorsqu'il est alité surtout, mobilisent fréquemment ces poussières; autant dire que le danger qui en résulte est permanent, et ce danger est démontré considérable par nos épreuves de cohabitation.

Si donc nous comparons ces divers résultats des deux catégories, nous trouvons qu'ils sont en faveur de la prééminence de la contagion par le virus desséché; mais, au point de vue prophylactique, il faut évidemment agir contre les deux sources possibles de la maladie.

*
* *

Les dernières constatations expérimentales que nous avons faites ici, mettant en évidence la contagion par les gouttelettes, démontrent par cela même que la prophylaxie sera plus difficile qu'à l'égard du virus sec exclusivement. *Non seulement il faut recueillir le crachat dans sa totalité, et le détruire, prendre des précautions à l'égard des linges et tissus souillés de bacilles, du visage et des mains du malade qui sont également plus ou moins pollués, — c'est là la partie de la prophylaxie la plus facile et la plus sûre dans ses effets, — mais il faut d'autre part essayer d'empêcher l'émission de gouttelettes au moment de la toux du malade.*

Or nous ne pouvons empêcher cette émission d'une manière complète, parce que les particules assez fines pour être respirables ne se fixent pas facilement sur les objets rencontrés; elles se réfléchissent pour la plupart avec l'air qui les transporte; nous avons démontré que c'est précisément pour cette raison que lesdites particules sont respirables; en effet, *si elles se fixaient aisément sur un obstacle rencontré, tel un linge placé devant la bouche, elles seraient pareillement arrêtées dans les premières voies respiratoires*, à cause des changements de direction subis par le courant aérien inspiratoire. Tout ce que nous pouvons faire contre elles est donc d'essayer d'en arrêter et fixer une partie, les plus grosses, les moins redoutables pour la contagion immédiate qui exige des particules fines, les plus redoutables pour la contagion éloignée après dépôt et dessiccation. Il faudra donc demander au malade de tousser sur un linge imprégné d'antiseptique, à l'état sec ou humide, de manière à tuer les bacilles fixés par ce linge; celui-ci sera changé fréquemment, au moins tous les jours une fois.

Toutes ces expériences avec le virus sec ou humide, ou par

cohabitation avec le malade, nous démontrent que *la tuberculose est extrêmement contagieuse, et, par conséquent, qu'il est absolument nécessaire d'organiser, d'après les données expérimentales, une prophylaxie rationnelle qui ne peut manquer d'être efficace et d'abaisser rapidement, dans des proportions considérables, la morbidité tuberculeuse humaine.*

ORIGINE
ET DISTRIBUTION DE L'URÉE DANS LA NATURE
APPLICATION
DE NOUVELLES MÉTHODES D'ANALYSE DE L'URÉE
BASÉES SUR L'EMPLOI DU XANTHYDROL

par R. FOSSE.

DEUXIÈME PARTIE

L'ALBUMINE ET L'URÉE

L'azote pénètre dans l'organisme animal à l'état d'albumine, il en sort principalement sous la forme d'urée.

Par suite de l'importance des phénomènes de combustion chez les animaux, on a été naturellement conduit à penser, de prime abord, que *l'urée provient* in vivo *de l'albumine et que l'oxydation est le phénomène chimique qui lui donne directement naissance.*

C'est par Dumas et Cahours, dès 1842, que le problème de l'origine de l'urée et du mécanisme de sa formation a été envisagé et posé pour la première fois.

Prévost et Dumas (1) démontrent d'abord (1823) que le sang du chien, du chat et du lapin, auxquels on a fait subir l'ablation des reins, contient ce même principe défini que, 50 ans auparavant, Rouelle le jeune avait retiré de l'urine (1773). Ils établissent leur démonstration, non par des réactions plus ou moins caractéristiques de l'urée, mais par l'analyse élémentaire de ce corps, isolé à l'état pur.

Après cette célèbre découverte qui montrait, à l'encontre de l'opinion admise en ce temps-là, que le rein ne produit pas

(1) Prévost et Dumas, Examen du sang et de son action dans les divers phénomènes de la vie. *Annales de chimie et de physique*, 1823, 2e série, t. XXIII, p. 90-104.

l'urée, mais l'élimine, Dumas, avec la collaboration de Cahours (1), publie une importante étude sur « les matières azotées neutres de l'organisme », où il conclut que *l'urée doit se former dans l'économie, grâce à l'oxydation de l'albumine.*

« Abstraction faite des excréments, disent-ils, l'homme adulte absorbe chaque jour une quantité de matière azotée neutre capable de représenter 15 à 16 grammes d'azote, quantité qui se retrouve en entier dans les 30 à 32 grammes d'urée que renferme l'urine qu'il rend dans les 24 heures.

« Ainsi, abstraction faite de tous les phénomènes qui se passent dans l'intérieur des organes, et en ne considérant que la balance d'entrée et de sortie, on trouve que l'homme rend en urée à peu près tout l'azote qu'il avait reçu sous forme de matière azotée neutre.

« N'est-il pas tout simple d'en conclure que la matière azotée neutre de nos aliments sert à produire cette urée et que toute l'industrie de l'organisme animal se borne, soit à assimiler cette matière azotée neutre quand il en a besoin, soit à la convertir en urée ?

« Cette opinion devient presque l'évidence, si l'on ajoute que l'étude des phénomènes de la respiration nous démontre que les matières grasses disparaissent de l'organisme animal par l'effet d'une véritable combustion ; que les matières amylacées ou sucrées sont également brûlées dans l'accomplissement des phénomènes de la vie ; enfin, que la différence qui existe entre l'urée et la matière animale neutre, d'où elle provient, se représente exactement par un phénomène de combustion...

« ...C'est donc, du moins nous l'admettons ainsi, par une véritable combustion que la matière azotée neutre s'est convertie en urée.

« Quand l'albumine ou la caséine se convertissent en urée, elles passent sans doute par divers intermédiaires qui, négligés ici, donnent en définitive

$$
\begin{array}{llllll}
C^{48}H^{37}Az^{12}O^{15} + O^{100} = \text{g.o} & C^{6} & H^{12} & Az^{12} & O^{6} & \text{(urée).} \\
 & C^{42} & & & O^{84} & \text{(acide carbonique).} \\
 & & H^{25} & & O^{25} & \text{(eau).} \\
\hline
 & C^{48} & H^{37} & Az^{12} & O^{115}. & »
\end{array}
$$

(1) Dumas et Cahours, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1842, t. XV, p. 976.

CHAPITRE PREMIER

LA PRODUCTION ARTIFICIELLE DE L'URÉE PAR L'ACTION DE RÉACTIFS OXYDANTS SUR L'ALBUMINE EST-ELLE POSSIBLE?

1. Dumas ne put réussir à confirmer ses prévisions par l'expérience. Les nombreuses tentatives qu'il fit pour réaliser la formation de l'urée en oxydant l'albumine échouèrent complètement.

« J'ai cherché maintes fois, en effet, à diverses époques, à brûler l'albumine, dit-il, et à la brûler sous l'influence d'une liqueur alcaline, par analogie avec ce qui se passe dans le sang, dans l'espoir de la convertir en urée ; j'ai employé à cet effet le bichromate de potasse, l'oxyde de mercure, celui d'argent, l'oxyde puce de plomb avec des liqueurs alcalines, et je n'ai jamais réussi (1). »

2. Antoine Béchamp (2) fut plus heureux. Il annonce dans une Thèse de médecine et dans un extrait de ce travail aux *Annales de chimie et de physique*, que l'oxydation alcaline permanganique de l'albumine conduit à l'urée (1856).

Quantité de permanganate employé. — Il trouve par le calcul qu'il faut 152 grammes d'oxygène environ, c'est-à-dire près de 1.000 grammes de permanganate de potassium pour que tout l'azote de 100 grammes d'albumine passe à l'état d'urée. Comme la destruction d'une pareille proportion de réactif oxydant est pratiquement impossible, il n'en prend que les trois quarts de la quantité calculée, 750 grammes au maximum pour 100 grammes d'albumine.

Mode opératoire. — 10 grammes d'albumine, en solution dans 30 fois leur poids d'eau, sont additionnés peu à peu de 75 grammes de MnO^4K. Après que la réaction, assez vive au début, s'est calmée, il chauffe à 40° et sature de temps en temps l'alcali libre par de l'acide sulfurique étendu, tout en conservant au milieu une faible réaction alcaline.

(1) Dumas, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1856, t. XLIII, p. 548.
(2) A. Béchamp, *Annales de chimie et de physique*, 1856, t. XLVIII, p. 348.

Extraction et caractérisation de l'urée. — Après destruction complète du persel, le filtrat. exactement neutralisé, est concentré au bain-marie et le produit traité par l'alcool fort. On sépare par filtration les sulfates de potassium et d'ammonium, évapore et reprend par l'alcool absolu le résidu sirupeux. Le produit résultant de l'évaporation de cette dernière liqueur alcoolique manifeste les réactions de l'urée à l'égard de la *potasse*, du *réactif de Millon*, des *acides azotique* et *oxalique*, ainsi que du *nitrate mercurique* avec ou sans addition de potasse.

Pour isoler l'urée, Béchamp traite par l'acide oxalique le produit d'évaporation de la dernière liqueur alcoolique, décompose l'oxalate par le carbonate de baryum, filtre la solution, l'évapore à sec et dissout le résidu dans l'alcool. Des cristaux d'urée se séparent par addition d'éther.

En présentant à l'Académie cette Thèse qui venait si heureusement confirmer ses propres idées théoriques, Dumas (1) ajouta :

« Elle est digne de l'attention du monde savant, non parce qu'elle nous apprend à produire l'urée par un moyen nouveau, ce sont là jeux familiers à la chimie organique, mais parce qu'elle fait connaître l'origine de l'urée dans l'économie animale.

« ...M. Béchamp vient de donner à la théorie chimique de la respiration son dernier et indispensable complément, en prouvant que l'urée dérive de l'albumine ou des produits azotés analogues et que l'albumine peut être directement transformée en urée par une combustion lente, opérée à l'aide d'une dissolution de permanganate de potasse vers la température de 80°.

« M. Béchamp ayant cité divers passages de mes écrits, établissant que l'urée constitue le résidu de la combustion des matières azotées du sang ou des tissus azotés en voie d'élimination, il est de mon devoir d'ajouter à ce qu'il a dit avec tant de bienveillance, que cette opinion, qui m'avait paru si conforme à l'ensemble des données de la physiologie, qui s'était maintenue dans mon esprit d'une manière si persévérante,

(1) Dumas, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1856, t. XLIII, p. 548.

avait été cependant l'objet de ma part de beaucoup d'essais infructueux, tentés en vue d'en obtenir la vérification qu'il vient de réaliser d'une manière si brillante...

« ...L'urée où se concentre l'azote, excrété par les animaux, est donc, comme je l'avais annoncé, un produit direct de la respiration, formé dans le sang comme l'acide carbonique, par oxydation lente au moyen de l'oxygène fourni par les poumons. Charriés l'un et l'autre par le sang, ils en sont éliminés l'un à titre de gaz par la surface pulmonaire; l'autre à titre de produit soluble par les reins; l'un pour servir à l'alimentation des plantes par les feuilles, l'autre à leur alimentation par les racines.

« Les matériaux combustibles du sang donnent donc en définitive, comme produits essentiels, de l'acide carbonique, de l'eau et de l'urée, à moins que cette dernière ne soit remplacée par des produits d'une combustion moins avancée. »

3. L'observation de Béchamp est infirmée presque aussitôt par Städeler (1).

4. Neuf ans plus tard Subbolin (2) refuse comme Städeler d'accepter la conclusion de Béchamp.

5. Béchamp (3) reprend alors l'expérience contestée, en modifie le mode opératoire, maintient le résultat annoncé et reconnaît enfin que l'*opération est assez délicate à conduire*, *puisqu'il lui est arrivé*, *à lui-même*, *une fois de ne pas réussir*.

« Dès le principe, dit-il, j'ai constaté que la réaction doit s'accomplir dans des liqueurs alcalines, devant rester alcalines. Si, dans le but de diminuer cette alcalinité, on ajoute trop d'acide sulfurique pour saturer le carbonate de potasse qui se forme, l'urée peut échapper pour deux motifs : soit qu'elle se détruise de la manière que j'ai indiquée, soit qu'elle contracte quelque combinaison qui l'empêche de se dissoudre dans l'alcool ou qui empêche de réaliser l'une de ses réactions caractéristiques, la formation du nitrate d'urée.

« Or je me suis assuré que l'acide oxalique peut être l'un des termes de l'oxydation; par conséquent, si cet acide peut se combiner à l'urée, il est clair que l'oxalate d'urée échappera,

(1) Stædeler, *Journal für praktische Chemie*, 1857, t. LXXII, p. 251.
(2) Subbolin, *Chemisches Centralblatt*, 1865, p. 503.
(3) Béchamp, *Comptes rendus dé l'Acad. des Sciences*, 1870, t. LXX, p. 866.

et que, s'il entre en solution, la liqueur évaporée fournira un résidu sur lequel l'acide nitrique ne produira rien de caractéristique.

« ...Dans mon premier travail, j'ai signalé le fait, qu'outre l'urée se forment des acides qui sont précipités par l'azotate de plomb et par l'azotate de mercure. Si l'on combine l'emploi successif de l'acétate de plomb et celui de l'azotate de mercure, on arrive, comme il va être dit, à isoler plus facilement l'urée. J'ai remarqué enfin qu'il valait mieux ne pas saturer la potasse devenue carbonate; qu'il y avait, en d'autres termes, moins d'inconvénients à faire agir vivement l'hypermanganate sur la matière albuminoïde, qu'à agir lentement en saturant à mesure par l'acide sulfurique. »

Mode opératoire de la deuxième expérience de Béchamp. — 10 grammes de matière albuminoïde, pure et sèche, privée de corps gras et de matières sucrées, sont placés dans une vaste fiole avec 200 cent. cubes à 300 cent. cubes d'eau. Après que la matière s'est bien hydratée, on ajoute en une seule fois 60 à 75 grammes de MnO^4K et l'on porte le tout au bain-marie à 80°, en agitant sans cesse. Une vive réaction se déclare et soulève le mélange, puis la coloration disparaît peu à peu.

Extraction et analyse de l'urée. — Le filtrat est additionné d'acétate de plomb (sans excès) qui précipite du carbonate et des sels de plomb. La liqueur filtrée est débarrassée du plomb par l'hydrogène sulfuré (sans excès). On filtre et précipite l'urée par addition successive de nitrate mercurique et d'eau de baryte. Après décomposition par H^2S de la combinaison mercurique, lavée et délayée dans un peu d'eau, on filtre, neutralise la liqueur par du carbonate de baryum, filtre et évapore au bain-marie.

Tantôt le résidu cristallise, tantôt il reste visqueux.

Béchamp ne parvient cependant pas à isoler l'urée pure à l'analyse. Après avoir analysé par le réactif de Millon le *produit de l'évaporation de la solution alcoolique de ce résidu*, il dit :

« Ces analyses démontrent deux choses : *la première, que l'urée est réellement produite*; *la seconde, qu'elle est mêlée dans le résidu avec une autre amide.*

« *Si les analyses donnent des nombres un peu trop forts pour*

l'azote, c'est que quelque composé amidé se forme. Les cristaux sont toujours souillés, en effet, d'un produit incristallisable qui fournit l'azote en excès. Du reste, le résultat est semblable en dosant l'urée de l'urine par le réactif de Millon.

6. O. Lœw (1) aboutit toujours à un résultat négatif en répétant soit la première, soit la seconde des expériences de Béchamp.

7. E. Ritter (2) réussit, au contraire, à produire l'urée aux dépens de l'albumine, de la fibrine et du gluten en suivant à la lettre la deuxième expérience de Béchamp.

8. Tappeiner (3) prend parti pour Städeler, Subbotin et Lœw contre Béchamp et Ritter.

9. En oxydant l'albumine par le permanganate de potassium, en milieu à peine alcalin, grâce à la présence de sulfate de magnésium, Lossen (4) n'obtient point trace d'urée, mais de la guanidine, qu'il isole à l'état de pureté et identifie par l'analyse. Il en conclut que Béchamp a eu entre les mains de la guanidine et non de l'urée.

10. La faculté que possède l'économie animale d'éliminer sous forme d'urée soit les acides aminés (Schultzen et Nencki) (5), soit même les sels ammoniacaux (Knieriem) (6) conduisit F. Hofmeister (7) à constater que l'urée apparaît *in vitro* lorsqu'on oxyde en milieu fortement ammoniacal à l'aide de quantités équimoléculaires de permanganate de potassium et de chlorure d'ammonium, à +40° au maximum : les acides aminés, l'albumine et une série de substances, azotées ou non, étrangères à l'économie animale.

11. D'après Jolles (8) la majeure partie de l'azote albuminoïde pourrait être transformée en urée : 70 à 80 p. 100 dans le cas de l'ovalbumine, de la sérumalbumine et de la caséine ; 90 p. 100 en ce qui concerne l'oxyhémoglobine !

(1) Lœw, *Journal für praktische Chemie*, 1870, t. II, p. 289.
(2) Ritter, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1871, t. LXXIII, p. 1219.
(3) Tappeiner, *Chemisches Centralblatt*, 1872, p. 21.
(4) Lossen, *Journal für praktische Chemie*, 1880, t. CCI, p. 369.
(5) Schultzen et Nencki, *Berichte*, 1869, t. II, p. 556; *Zeitschrift für Biol.*, 1873, t. 8, p. 124; — Nencki, *Berichte*, 1872, 5, p. 890.
(6) Knieriem, *Zeitschrift für Biol.*, 1874, t. X, p. 263.
(7) F. Hofmeister, *Archiv für experim. Path. und Pharmac.*, 1896, t. XXXVIII, p. 426-444.
(8) Jolles, *Chemisches Centralblatt*, 1901, II, p. 234.

C'est à l'oxydation par le permanganate de potassium et l'acide sulfurique que l'on serait redevable de ces surprenants résultats.

12. Schulz (1), Falta (2), Abderhalden (3) ont énergiquement protesté contre ces prétendues synthèses de l'urée en milieu sulfurique.

13. Hugounenq (4) isole l'urée, pure et cristallisée, des produits résultants de l'oxydation de l'albumine par le persulfate d'ammonium, en milieu fortement ammoniacal.

14. En dehors de A. Gautier (5) qui estime que « l'observation si souvent contredite de M. Béchamp paraît toutefois exacte », la littérature chimique antérieure à nos premières notes sur l'urée (1912) n'accorde que peu de crédit à la production artificielle de cette amide par l'action de réactifs oxydants sur l'albumine.

La plupart des traités ne citent plus cette réaction.

D'autres expriment l'opinion que cette synthèse n'a jamais été réalisée, paraît douteuse ou n'est pas suffisamment démontrée.

Même oubli ou jugement négatif dans les mémoires sur l'urée.

15. Dictionnaire de Würtz, suppl. I, p. 56 :

« M. Béchamp avait annoncé que, dans ces conditions, il se formait une trace d'urée et un produit cristallin de nature indéterminée. La formation de l'urée avait été contestée par Städeler. Dans le cours de ces dix dernières années la discussion de ce point a été reprise sans amener la conviction en faveur de l'expérience de Béchamp. »

Schützenberger, *Chimie générale*, t. VI, p. 171 :

« D'après Béchamp et Ritter, il se formerait de l'urée dans cette dernière circonstance ; d'après d'autres recherches, le fait de la production de l'urée par oxydation des albuminoïdes au

(1) Schulz, *Ibid.*, 1901, II, p. 856; *Zeitschrift für phys. Chem.*, t. XXXIII, p. 363.

(2) Falta *Chemisches Centralblatt*, 1901, II, p. 911 ; *Berichte*, XXXIV, p. 2674.

(3) Abderhalden, *Chemisches Centralblatt*, 1903, I, p. 1218; 1903, II, p. 559; *Zeitschrift für phys. Chem.*, XXXVII, p. 506; XXXIX, p. 210.

(4) Hugounenq, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1901, CXXXII, p. 1240.

(5) A. Gautier, *Chimie biologique*, 1892, p. 95.

moyen de permanganate de potasse ne serait pas suffisamment établi. »

ARTHUS, *Précis de Physiologie*, 3e édition, 1908, p. 492 :

« ...Les chimistes n'ont pas réussi, en partant des protéiques, à faire de l'urée *in vitro*, directement et sans intermédiaire. »

RICHTER et ANSCHÜTZ, *Chimie organique*, t. I, 1909, p. 375 :

« Les dérivés azotés de l'albumine, qui sont éliminés par l'urine, n'ont pu, en général, être obtenus artificiellement aux dépens de l'albumine. »

HAMMARSTEN, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 7e édition, 1910, p. 647 :

« Dans les tentatives d'obtention directe de l'urée par oxydation de l'albumine, on a obtenu quelque peu de guanidine, mais de l'urée, cela n'est pas certain. »

CHAPITRE II

DÉMONSTRATION DE LA FORMATION DE L'URÉE DANS L'EXPÉRIENCE DE BÉCHAMP

Oxydation de l'albumine. — 5 à 6 grammes de MnO^4K pulvérisés sont introduits dans un vase contenant 100 cent. cubes d'eau et 5 volumes d'albumine pure, coagulée, imbibée d'eau par trempage préalable durant 4-5 heures. Le mélange est plongé dans un bain à 75-80° et agité de temps en temps. La coloration du caméléon ayant disparu, une nouvelle dose est ajoutée et l'opération répétée jusqu'à destruction totale de 35 grammes de permanganate.

Précipitation de l'urée. — Après essorage de la mixture à la trompe, lavage du vase et du peroxyde avec 150 cent. cubes d'acide acétique cristallisable, le filtrat incolore est traité par 30 cent. cubes de solution alcoolique de xanthydrol à 1/20. Un trouble se produit, puis un précipité blanc volumineux se sépare, formé de petits cristaux.

Recristallisation de l'uréine brute. — La matière, essorée après quelques heures, lavée à l'alcool, est dissoute dans la pyridine à l'ébullition au reflux. Elle s'en sépare par refroidissement en cristaux brillants qu'on essore, lave à l'alcool et sèche à 100-110°.

L'analyse complète (1) identifie ce corps à l'urée dixanthylée

$$O\left\langle{C^6H^4 \atop C^6H^4}\right\rangle CH{-}NH.CO.NH{-}CH\left\langle{C^6H^4 \atop C^6H^4}\right\rangle O$$

Le même résultat positif a été obtenu en soumettant à la même expérience :

1° La globuline de l'œuf,

2° L'albumine du sang,

3° La fibrine de bœuf et de porc,

4° La caséine du lait de vache,

5° La gélatine commerciale,

6° Le gluten de blé.

Quoique l'urée ait ainsi pris naissance au sein d'un mélange oxydant, il n'en faudrait cependant pas conclure *a priori* que sa formation est due *nécessairement et exclusivement à un procès d'oxydation.*

Les travaux de Schützenberger, Schulze et Steiger, Drechsel, Kossel, Richet, Kossel et Dakin, A. Gautier nous ont conduit à penser que ce corps devait aussi se produire *directement par l'action* des alcalis sur l'albumine.

L'expérience a vérifié cette prévision et nous a ainsi mis en possession, à la fois, d'un mode de formation de l'urée, qui n'avait pas encore été réalisé directement *sous l'influence unique des alcalis* et d'une réaction générale, caractéristique et sensible des matières protéiques.

CHAPITRE III

PRODUCTION DIRECTE DE L'URÉE PAR HYDROLYSE ALCALINE DES ALBUMINOIDES

1. D'après Schützenberger les matières protéiques dérivent de deux amides :

l'urée $NH^2.CO.NH^2$

et

l'oxamide $NH^2.CO.CO.NH^2$

Pour émettre cette hypothèse, l'éminent chimiste s'appuie,

(1) Le registre de laboratoire concernant les analyses de ce corps se trouvant actuellement à Lille, nous ne pouvons transcrire ici les chiffres donnés par la combustion et le dosage de l'azote.

non pas sur la formation et l'isolement des deux diamides, mais uniquement sur le rapport des gaz carbonique et ammoniac, engendrés par l'action de la baryte sur les protéiques, à une température où l'urée et l'oxamide sont complètement hydrolysées.

La conception de Schützenberger, considérant les albuminoïdes comme des dérivés de l'urée, a été à la fois confirmée et rectifiée. Dans l'état actuel de nos connaissances, les protéiques dérivent moins directement de l'urée que de la guanidine.

En soumettant l'albumine à l'action hydrolysante des acides minéraux, Drechsel (1) a isolé une substance qui, sous l'influence de l'eau de baryte à l'ébullition, se scinde en urée et un autre corps azoté.

On sait aujourd'hui qu'il existe dans la molécule des protéiques un groupement générateur de l'urée, celui de la guanidine

$$NH{=}C\begin{matrix}\diagup NH^2\\ \diagdown NH^2\end{matrix}$$

qui n'est autre chose que l'imide de l'urée :

$$O{=}C\begin{matrix}\diagup NH^2\\ \diagdown NH^2\end{matrix}$$

Le noyau guanidique fait partie intégrante d'un acide aminé, l'arginine, produit constant de l'hydrolyse des albuminoïdes par les acides minéraux.

L'arginine ou acide δ-guanidyl α-aminopentanoïque

$$\begin{matrix}NH{=}C{-}NH{-}CH^2.CH^2.CH^2.CH{-}CO^2H\\ \quad | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \; NH^2 \qquad\qquad\qquad\quad NH^2\end{matrix}$$

découverte par Schulze et Steiger (2) dans les pousses de lupin et de courge étiolés, se produit synthétiquement par condensation de la cyanamide et de l'ornithine (Schulze et Winterstein) [3].

(1) Drechsel, *Berichte*, 1890, t. XXIII. p. 3096.
(2) Schulze et Steiger, *Berichte*, 1886, t. XIX, p. 1177; — *Zeitsch. für physiol. Ch.*, t. II, p. 43 ; t. XXIX, p. 329; t. XLI, p. 458; t. XLIII, p. 179.
(3) Schulze et Winterstein, *Berichte*, 1899, t. XXXII, p. 3191; — *Zeitsch. für physiol. Ch.*, 1901, t. XXXIV, p. 128.

$$NH^3{-}C:N + NH^2{-}\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}H.CH^2.CH^2.CH.CO^2H = NH:\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}{-}NH{-}CH^2.CH^2.CH^2.\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}H{-}CO^2H$$

Les alcalis la scindent en urée et ornithine

$$NH:\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}{-}NH{-}CH^2.CH^2.CH^2.\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}H{-}CO^2H + H^2O = CO(NH^2)^2 + NH^2.CH^2.CH^2.CH^2.\underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{C}}H{-}CO^2H$$

Kossel et ses élèves ont montré l'importance considérable de l'arginine dans la molécule des protéiques. Les *protamines*, les *histones* et quelques albuminoïdes d'origine végétale sont particulièrement riches en arginine.

La salmine, la clupéine, la scombrine renferment de 87,8 à 89,2 d'arginine pour 100 grammes.

2. Pour déterminer la formation de l'urée par hydrolyse des protéiques, il n'est point nécessaire, comme on l'avait toujours fait jusqu'ici, d'effectuer la série des opérations suivantes :

1° Hydrolyse de l'albuminoïde par les acides minéraux ;

2° Séparation de l'arginine des acides aminés et des bases hexoniques ;

3° Hydrolyse de l'arginine par la baryte ;

4° Isolement de l'urée du mélange.

Il suffit simplement de traiter l'albumine par un alcali : l'urée xanthylée se précipite cristallisée, si l'on porte du xanthydrol dans la solution alcaline du protéique, étendue de plusieurs volumes d'acide acétique.

Dégradation immédiate des albuminoïdes en urée par l'action de la potasse. — 5 grammes d'ovalbumine pure, coagulée et le même poids de potasse en solution dans 50 cent. cubes d'eau, sont maintenus à l'ébullition au reflux, durant 20 minutes.

La solution est traitée par 70 cent. cubes d'acide acétique, puis, après refroidissement, par 20 cent. cubes de solution alcoolique de xanthydrol à 1/20.

L'analyse complète du précipité, purifié par une cristallisation dans la pyridine, lui assigne la formule de l'urée xanthylée

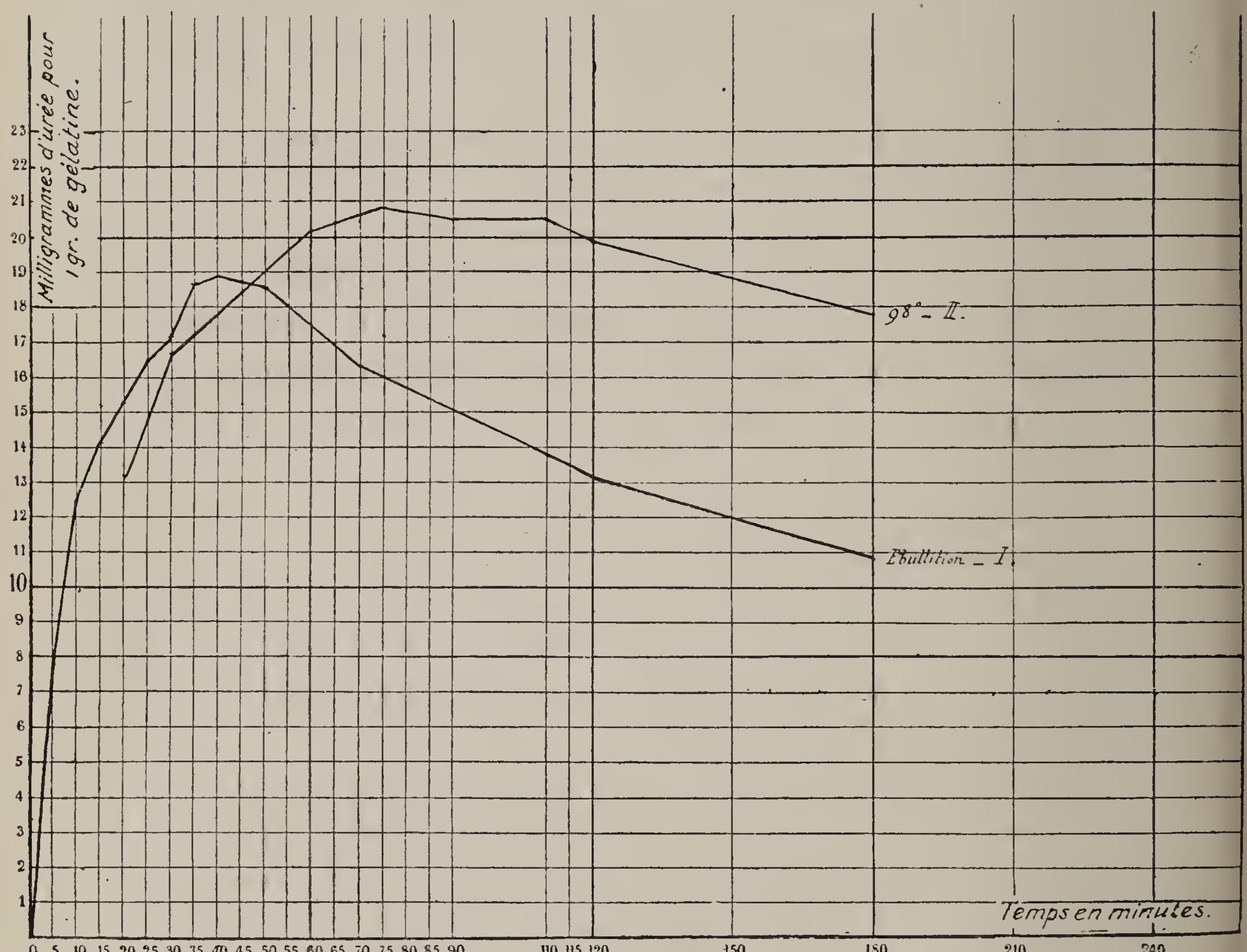
$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH{-}NH.CO.NH{-}CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

Le même résultat a été obtenu avec les protéiques qui suivent :

Sérum-albumine,

Fibrine de porc,
Caséine du lait de vache,
Gélatine,
Peptone de Witte.

3. La baryte, les carbonates de potassium et de sodium se comportent à l'ébullition comme la potasse et la soude, mais avec plus de lenteur.



A la température ordinaire, les alcalis caustiques dégradent lentement les protéiques en urée.

Cette transformation peut être obtenue encore, même par la chaux caustique pure en suspension dans l'eau, après 5 heures d'ébullition.

A 100°, avec l'eau pure ou acétifiée, le résultat est négatif.

4. Afin de déterminer l'influence de la durée du chauffage sur la quantité de carbamide formée par un poids donné de gélatine et de potasse, nous avons institué deux séries d'expériences :

Dans l'une, 50 cent. cubes de solution de gélatine et de potasse à 1/10, préparée à froid, ont été maintenus à l'ébullition au reflux durant des temps variables (courbe I), ci-contre.

Dans l'autre (courbe II), on a placé, pendant des intervalles de temps croissants, à $+98^\circ$, 10 cent. cubes de liqueur titrée contenant 1/10 de gélatine et 1/20 de potasse.

Les courbes qui figurent ici résument les résultats obtenus, rapportés à 1 gramme de gélatine, l'urée étant évaluée en milligrammes et le temps en minutes.

On voit que la quantité d'urée formée augmente d'abord très rapidement, atteint un maximum et diminue ensuite avec une extrême lenteur.

L'urée obtenue dans la première phase du phénomène résulte donc de deux actions de sens opposés et de vitesses très différentes, provoquées par une même cause, l'hydrolyse alcaline, s'exerçant sur deux corps de résistances fort inégales : un dérivé guanidique (la molécule protéique) et l'urée.

Tandis que la réaction génératrice de l'urée a terminé sa tâche en 40 minutes environ (courbe I), *la réaction destructive ne réussit pas, même après 3 heures, à accomplir la moitié de la sienne.*

CHAPITRE IV

LE PROCESSUS PUR ET SIMPLE DE L'OXYDATION PEUT-IL RÉALISER LA SYNTHÈSE DE L'URÉE AUX DÉPENS DES PROTÉIQUES ?

L'albumine produit donc indiscutablement l'urée sous l'influence : soit du permanganate de potasse, soit seulement de la potasse, de la soude ou de leurs carbonates.

Ce sont là, ainsi qu'on vient de le voir, transformations faciles à vérifier grâce au xanthydrol.

Si la nouvelle méthode d'identification de l'urée, appliquée à la réaction de Béchamp, permet de trancher *définitivement* une des questions les plus discutées de la littérature chimique, elle ne nous apprend rien cependant sur le mécanisme qui donne naissance à ce corps.

L'urée, formée dans cette expérience, provient-elle uniquement de l'hydrolyse du noyau guanidique de l'albumine?

Découle-t-elle à la fois de cette origine et de l'oxydation de groupements non uréogènes de la molécule protéique?

Dans quelle mesure ces deux sources collaborent-elles à la formation de l'urée?

Ces questions, qui paraissent *a priori* fort difficiles à résoudre, s'éclairent d'une vive lumière par le dosage de l'urée dans les produits résultant de l'oxydation d'un albuminoïde donné et celui de l'arginine dans le même protéique.

Voici un tableau de la teneur en arginine de plusieurs protéiques, déterminée par différents auteurs.

Teneur en arginine et urée virtuelle de quelques protéiques.

PROTÉIQUE	ARGININE pour 100	AUTEURS	URÉE VIRTUELLE pour 100
1° Protamines.			
Salmine	87,4	Kossel et Kutscher	30,1
Clupéine	82,2	Kossel et Dakin	28,3
Stucine	58,2	Id.	20,
2° Protéiques d'origine animale.			
Albumine de l'œuf cristallisée	2,14	Hugounenq et Galimard	0,74
Albumine du jaune d'œuf	2,39	Chapman et Petrie	0,82
Vitelline du jaune d'œuf	7,46	Osborne et Yones	2,57
Albumine de chair de poulet	6,5	Osborne et Heyl	2,24
Albumine musculaire de la chair de poisson	6,34	Id.	2,18
Fibrine	3, Ensemble avec l'histidine.	Kutscher	
Caséine	4,84	Hart	1,66
3° Albumoïdes.			
Gélatine	9,3	Kossel et Kutscher	3,2
Fibroïne (soie)	1,	E. Fischer et Skita	0,34
Séricine (soie)	4,	Id.	1,37
Elastine	0,3	Kossel et Kutscher	0,1
Kératine (mouton)	2,7	Abderhalden et Voilinovici	0,93
4° Albuminoïdes d'origine végétale.			
Gluten (blé)	3,05	Kossel et Kutscher	1,05
Mucédine (blé)	3,13	Id.	1,07
Glyadine (blé)	3,40	Abderhalden et Samulz	1,17
Zéine (maïs)	1,82	Osborne et Yones	0,62
Légumine (vesce)	11,06	Osborne et Heyl	3,8
Conglutine (lupin)	10,93	Osborne, Leavenworth et Brautecht	3,77
Globuline (semence de courge)	14,4	Osborne et Clapp	4,9

Dans la quatrième colonne, nous avons calculé, en lui attribuant le qualificatif de *virtuelle*, l'urée correspondant à l'arginine.

On voit que l'*urée virtuelle*, variable d'un protéique à l'autre, atteint des valeurs très élevées chez les protamines pour s'abaisser considérablement, au contraire, dans le cas des albuminoïdes que nous consommons.

Quelle est, dans l'urée totale que nous rejetons, la part de l'urée *virtuelle* de nos aliments ?

D'après Drechsel, si la totalité de l'arginine, incluse dans les ingesta, était hydrolysée sous l'influence d'un ferment, l'arginase de Kossel, par exemple, l'urée ainsi formée atteindrait à peine 10 p. 100 de la quantité éliminée.

La quantité d'urée obtenue en oxydant un protéique déterminé est-elle supérieure à son urée virtuelle : nous sommes, alors, en droit de conclure à la synthèse de l'urée par oxydation

Oxydation de la fibrine.

A

Proportion des composants de la réaction.

Fibrine de porc, dégraissée.	1 gramme.
Eau.	10 cent. cubes.
MnO^4K	7 gr. 5

Mode opératoire. — Au mélange d'eau et de fibrine, abandonné plusieurs heures à la température ordinaire pour permettre l'imbibition et le gonflement de la matière, puis placé au bain-marie vers 70-80°, on ajoute un peu de permanganate et on agite. La fibrine se désagrège en même temps que l'oxydant se détruit. La totalité du permanganate ayant été introduite, le mélange, trituré de temps en temps, avec une baguette de verre, additionné d'eau pour remplacer celle qui s'évapore, est maintenu vers 80°, jusqu'à destruction complète du réactif oxydant. Ce résultat est atteint après 6-7 heures environ.

Dosage de l'urée. — La mixture, étendue d'un peu d'eau, est essorée et le résidu lavé à la trompe de manière à produire un volume de liqueur égal à 50 cent. cubes.

20 cent. cubes de cette solution reçoivent 40 cent. cubes

d'acide acétique et 3 cent. cubes de xanthydrol méthylique à 1/10.

Poids d'uréine, essorée après 12 heures, lavée à l'alcool et séchée :

0 gr. 067
0 gr. 066

D'où, urée pour 100 grammes de fibrine :

$$\frac{0,067}{7} \times 2,5 \times 100 = 2,39$$

$$\frac{0.066}{7} \times 2.5 \times 100 = 2,36$$

B. — L'expérience qui suit est encore plus conforme aux indications de Béchamp, pour l'oxydation du blanc d'œuf.

L'agitation continuelle qu'il imprimait à la masse a été produite ici mécaniquement au moyen d'un agitateur à palettes, mû électriquement.

PROPORTION DTS COMPOSANTS DE LA RÉACTION.

Fibrine	10 grammes.
Eau	200 cent. cubes.
MnO^4K	75 grammes.

Mode opératoire. — Après 3 heures de contact, le mélange d'eau et de fibrine est pourvu d'un seul coup de la totalité du permanganate, placé au bain-marie à 80° et soumis à une agitation mécanique énergique. Après 5 heures environ, tout le permanganate a disparu.

Dosage de l'urée. — Volume du filtrat et des eaux de lavage : 500 cent. cubes.

Poids d'uréine pour 20 cent. cubes :

0 gr. 067
gr. 0665

Trouvé, urée pour 100 grammes de fibrine :

2 gr. 39
2 gr. 3

L'urée virtuelle pour 100 grammes de fibrine est inférieure à 1 gr. 03, puisque l'arginine, dosée en bloc avec l'histidine, a donné le nombre 3. *Il en résulte donc que l'urée créée par oxydation est au moins supérieure à 1 gr. 3 pour 100 de fibrine.*

Oxydation de la caséine.

Proportion des composants de la réaction.

Caséine du lait de vache	1 gramme.
Eau	20 cent. cubes.
MnO^4K.	7 gr. 5

Mode opératoire. -- Au mélange d'eau et de caséine, préparé depuis quelques heures, on ajoute une partie du permanganate, agite et chauffe quelques instants au bain-marie. Après disparition du persel, on répète la même opération deux ou trois fois, puis on place le vase, muni de ce qui reste de permanganate et d'un tube réfrigérant, dans un bain d'eau maintenu à + 80°. On agite de temps en temps. Après 3 h. 30 environ, la mixture ne possédait plus de coloration violette.

Dosage de l'urée. — Volume du filtrat et des eaux de lavage : 100 cent. cubes.

A

Uréine produite par 20 cent. cubes :

0 gr. 044
0 gr. 045

D'où, pour 100 grammes de caséine :

Urée, 3 gr. 14 et 3 gr. 21 ; moyenne	3 gr. 17
Urée virtuelle	1 gr. 66
Urée formée synthétiquement par oxydation	1 gr. 51

B. — Même expérience.

Durée du chauffage au bain-marie à + 80° : 3 h. 30.

Volume du filtrat et des eaux de lavage : 100 cent. cubes.

Uréine produite par 20 cent. cubes : 0 gr. 04.

D'où, pour 100 grammes de caséine :

Urée totale	2 gr. 86
Urée virtuelle	1 gr. 66
Urée produite par oxydation	1 gr. 20

Conclusions :

1° L'action du permanganate de potassium sur l'albumine donne naissance à l'urée ainsi que l'ont annoncé Béchamp d'abord, Ritter ensuite.

2° Mais l'urée se forme aussi directement quand on soumet les matières protéiques à l'action des alcalis caustiques fixes, de leurs carbonates et des terres alcalines, par suite de l'hydrolyse de leur noyau guanidique.

3° La fibrine et la caséine, traitées par la méthode de Béchamp, produisent une quantité d'urée deux fois supérieure environ à l'urée virtuelle, correspondant à la quantité connue d'arginine incluse dans leur molécule.

4° Le phénomène chimique de l'oxydation, pure et simple, permet de réaliser la synthèse de l'urée aux dépens des protéiques, si, les titres en arginine attribués à la fibrine et à la caséine étant exacts, les deux protéiques ne possèdent pas, en outre, d'autres groupes uréogènes inconnus, susceptibles de former, par hydrolyse, une quantité d'urée supérieure à celle qu'ils contiennent déjà virtuellement.

TROISIÈME PARTIE

SYNTHÈSE DE L'URÉE PAR OXYDATION DE L'AMMONIAQUE ET DES HYDRATES DE CARBONE OU DE LA GLYCÉRINE PARTICIPATION VRAISEMBLABLE DES HYDRATES DE CARBONE ET DES GRAISSES AU PHÉNOMÈNE DE L'URÉOGENÈSE

CHAPITRE PREMIER

1. Nous venons de voir que, sous des réserves plus ou moins fondées, les albuminoïdes donnent synthétiquement naissance à l'urée par oxydation artificielle.

Il est donc possible que le même phénomène ait lieu dans l'organisme et qu'une certaine proportion de l'urée éliminée soit créée directement aux dépens de l'albumine, grâce à un pur phénomène d'oxydation.

Au point de vue quantitatif, la proportion de l'azote albuminoïde, ainsi transformée artificiellement en urée, est assez faible.

En effet la caséine oxydée d'après la méthode décrite, nous a donné 3 gr. 2 d'urée pour 100.

Or l'urée virtuelle contenue dans 100 grammes de caséine est représentée par 1 gr. 66.

L'urée formée synthétiquement par oxydation, pour 100 gr. de caséine, égale donc 1 gr. 54.

Le rapport de l'azote de l'urée, ainsi engendrée par oxydation, à 100 parties d'azote total de la caséine, devient, en prenant 15 gr. 7 pour teneur centésimale azotée de ce protéique :

$$1{,}54 \times \frac{28}{60} \times \frac{1}{15{,}7} \times 100 = 4 \text{ gr. } 57.$$

Ce rapport accuse une valeur double si, au lieu de considérer uniquement l'urée d'oxydation, on prend l'urée totale (d'hydrolyse et de synthèse), isolée dans l'action du permanganate :

$$3{,}2 \times \frac{28}{60} \times \frac{1}{1{,}57} \times 100 = 9 \text{ gr. } 51.$$

On voit donc combien nous sommes encore loin de ce qui se passe dans l'organisme, où 80 à 85 p. 100 de l'azote protéique ingéré s'éliminent à l'état d'urée !

La majeure partie de l'azote mis en expérience échappe à l'uréification : soit qu'il se dégage à l'état d'ammoniaque, soit qu'il s'oxyde en formant de l'acide nitrique, soit encore, et surtout, parce *que l'oxydation manque d'intensité pour brûler le carbone et l'hydrogène* ou, ce qui revient au même, soit que les produits organiques qui dérivent de l'albumine, dans les conditions de l'expérience, *opposent une trop grande résistance au procédé de combustion employé*; soit qu'une partie plus ou moins importante de l'urée formée se détruise par hydrolyse ou oxydation, soit pour d'autres raisons.

Avant d'entreprendre sur l'albumine de nouvelles expériences ayant pour but d'améliorer le rendement en urée et de voir ainsi jusqu'à quel degré il nous était permis d'imiter la nature vivante, nous avons cru devoir examiner si les matériaux carbonés de l'organisme, autres que les protéiques, les *hydrates de carbone* et *les graisses* ne seraient pas capables de produire artificiellement de l'urée par oxydation en *présence d'ammoniaque.*

Cette base peut être considérée comme un produit d'oxydation des protéiques.

L'ammoniaque se forme, en effet, à côté d'acide azotique dans l'oxydation permanganique de l'albumine.

Tout l'azote protéique se métamorphose exclusivement en ammoniaque, tandis que le carbone et l'hydrogène passent à l'état de CO^2 et H^2O dans l'oxydation sulfurique, utilisée pour le dosage de l'azote d'après la méthode classique de Kjeldahl.

On trouve cette base dans tous les organes et tous les liquides de l'économie. Elle représente dans l'urine humaine 5 à 6 p. 100 de l'azote total.

Le glucose, présent dans toutes les cellules, est, de tous les principes carbonés, celui que nous consommons le plus abondamment.

Pour fixer les idées, voici ce que dépense en moyenne, par 24 heures, un adulte normal fournissant un travail modéré, d'après Voigt :

Hydrates de carbone.	500	grammes.
Albumine.	118	—
Graisses	56	—

Aucune relation n'était connue, avant nos travaux entre ces trois constituants normaux qui se forment incessamment dans le sang et toutes les cellules : *glucose*, *ammoniaque*, *urée*.

La littérature affirmait même que l'oxydation artificielle du glucose et de l'ammoniaque ne donne pas trace d'urée.

Dans le mémoire déjà cité de F. Hofmeister (1), nous relevons, en effet, parmi les substances que l'oxydation permanganique en présence d'ammoniaque n'a pu transformer en urée : le *glucose*, la *glycérine*, l'*aldéhyde formique*.

Il est cependant facile de démontrer :

1° Que l'urée se forme *abondamment* quand on oxyde en présence d'ammoniaque : le *glucose*, le lévulose, la saccharose, la dextrine, l'inuline, l'amidon, la *cellulose* elle-même ; la *glycérine*, constituant des graisses ; l'*aldéhyde formique*, générateur des hydrates de carbone chez les végétaux, d'après la théorie de Baeyer et les synthèse d'Emil Fischer.

2° Que la quantité d'urée, donnée par l'oxydation du glucose et de l'ammoniaque, surpasse de beaucoup celle obtenue dans l'oxydation des protéiques.

(1) F. Hofmeister, *Archiv für experim. Path. und Pharm.*, 1896, XXXVII, p. 426.

3° Que l'urée se produit encore par oxydation du glucose en présence de très *petites quantités d'ammoniaque.*

4° Qu'elle se forme également aux dépens de ces deux corps, pris à des concentrations du même ordre de grandeur ou même plus faibles que celles que l'on rencontre dans l'organisme.

Il est donc possible que les trois classes de matériaux carbonés contenus chez les êtres vivants (*protéiques*, *hydrates de carbone* et *graisses*) participent *in vivo* à *l'uréogenèse.* Une importante relation, demeurée jusqu'ici complètement insoupçonnée, existe vraisemblablement entre la glycogenèse et l'uréogenèse.

De là découle en outre, sur le mécanisme chimique de cette dernière fonction biologique, des données nouvelles, incompatibles avec la théorie actuellement régnante.

On admet, en effet, que la formation de l'urée dans l'organisme serait due à une diastase, qui déshydraterait le carbonate d'ammoniaque, produit ultime des combustions, caustique et toxique, afin de le métamorphoser en un corps neutre et inoffensif :

$$CO\left\langle\begin{matrix} O.NH^4 \\ O.NH^4 \end{matrix}\right. = 2\,H^2O + CO\left\langle\begin{matrix} NH^2 \\ NH^2. \end{matrix}\right.$$

L'uréification représenterait donc, chez les animaux, une fonction très particulière, créée dans un but de défense antitoxique, exécutée par de mystérieux agents dont la vie animale aurait le privilège.

Cette diastase uréopoïétique, dont l'existence est encore à démontrer, produirait en milieux aqueux, à 40° au maximum, avec des rendements extrêmement élevés, une *déshydratation* qui n'a pu être réalisée que d'une manière très limitée, à l'autoclave, sous pression, à 120° et en partant du carbonate d'ammoniaque, non dissous, solide.

Si le carbonate d'ammoniaque, corps minéral, devenait de l'urée, corps organique, on assisterait chez l'animal à une véritable synthèse, avec absorption de chaleur, comparable jusqu'à un certain point à celles qui servent de base à la vie végétale, et cela uniquement dans le but de lutter contre la toxicité de l'ammoniaque.

Enfin, d'après la théorie actuelle de l'uréogenèse, les phé-

nomènes d'oxydation n'auraient qu'un rôle tout à fait secondaire, celui de fournir l'acide carbonique nécessaire à la formation du carbonate d'ammonium.

Dans les expériences qui suivent, on voit que l'urée prend naissance, au contraire, par *processus d'oxydation*, à l'abri de toute intervention vitale et en *quantité notable*, quand on oxyde énergiquement, en présence d'ammoniaque, *ceux des aliments que nous consommons le plus abondamment*, *les hydrates de carbone* (1).

CHAPITRE II

OXYDATION DES HYDRATES DE CARBONE OU DE LA GLYCÉRINE EN PRÉSENCE D'AMMONIAQUE

Oxydation du glucose et de son poids d'ammoniaque par le permanganate de potassium.

Proportion des réactifs.

Glucose pur.	1 gramme.
Ammoniaque à l'état de sulfate.	0 gr. 98
Eau	20 cent. cubes.
MnO^4K	9 grammes.

Mode opératoire. — Dans une fiole conique contenant le glucose, le sel ammoniacal et l'eau, on introduit, par petites portions, dans l'espace de 1 heure et en agitant, le permanganate pulvérisé. Le vase, muni d'un tube réfrigérant, est placé ensuite au bain d'eau chauffé à 50-60°, jusqu'à destruction complète du réactif oxydant.

Lorsque ce résultat est atteint (après 4 heures environ), le mélange refroidi est traité par 30 cent. cubes d'acide acétique cristallisable, puis essoré. Après lavage de la fiole et du peroxyde à l'aide de 20 cent. cubes d'acide acétique, le filtrat incolore, passé à travers un filtre à sulfate de baryte, reçoit 20 cent. cubes de solution alcoolique de xanthydrol à 1/20. Le précipité produit après 12 heures est essoré, lavé à l'alcool, à l'eau

(1) La formation de l'urée en solution, aux dépens du carbonate d'ammoniaque dissous, est endothermique, comme celle des amides en général et absorbe, suivant la dilution, de 6 calories 4 à 8 calories. (Berthelot, *Chaleur animale*, 1899, t. I, p. 113.)

chaude, séché et pesé. L'analyse identifie ce corps à l'urée dixanthylée.

Rendements. — Poids d'uréine : 0 gr. 5135.

D'où :

Urée pour 100 grammes de glucose	7 gr. 33
Urée pour 100 grammes d'ammoniaque	7 gr. 78

Oxydation du glucose en présence de la moitié (environ) de son poids d'ammoniaque.

Proportion des réactifs.

Glucose pur	1 gramme.
Ammoniaque à l'état de sulfate	0 gr. 49
Eau	20 cent. cubes.
MnO^4K	9 grammes.

Même mode opératoire que ci-dessus.

Rendements. — Poids d'uréine : 0 gr. 309.

D'où :

Urée pour 100 grammes de glucose	4 gr. 41
Urée pour 100 grammes d'ammoniaque	9 grammes.

Oxydation du sucre de canne et de l'ammoniaque par le permanganate calcique.

Composition du milieu réactionnel

Sucre de canne	2 grammes.
Ammoniaque	2 grammes.
Eau	50 cent. cubes.
Permanganate calcique cristallisé.	20 grammes.

Mode opératoire. — Dans un ballon, muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à robinet, contenant 20 cent. cubes de solution de sucre et d'ammoniaque à 1/10, on introduit en plusieurs fois, et en agitant, le permanganate dissous dans son poids d'eau. Après lavage de l'ampoule à l'aide de 10 cent. cubes d'eau, on porte à l'ébullition qu'on maintient jusqu'à décoloration complète du mélange. La mixture, pourvue de 50 cent. cubes d'eau, est essorée et le peroxyde lavé avec la même quantité d'eau chaude.

Volume du filtrat : 150 cent. cubes.

Dosage de l'urée. — Poids d'uréine, obtenue en traitant 20 cent. cubes de liqueur par 40 cent. cubes d'acide acétique et 0 gr. 30 de xanthydrol dissous dans l'acide acétique : 0 gr. 0935.

Urée, pour 100 de sucre :

$$\frac{0,0935 \times 150}{7 \times 20} \times 50 = 5 \text{ grammes.}$$

CHAPITRE III

FORMATION DE L'URÉE PAR OXYDATION DE GLUCOSE EN PRÉSENCE DE PETITES QUANTITÉS D'AMMONIAQUE

Nous venons de montrer l'aptitude du glucose et de l'ammoniaque à engendrer l'urée par oxydation.

Mais ces expériences, dans lesquelles nous oxydons le glucose et son poids ou la moitié de son poids d'ammoniaque, s'écartent beaucoup de ce qui se passe dans l'organisme où la quantité d'ammoniaque produite dans un temps donné est bien plus faible que celle de glucose.

D'après Voigt, un homme normal de 75 kilogrammes fournissant un travail modéré, consommerait en moyenne par 24 heures :

Albumine	118	grammes.
Graisse	56	—
Hydrate de carbone	500	—
Calories	2.810	—

Si l'on admet que 100 grammes d'albumine possèdent une teneur moyenne de 16 grammes en azote et que tout cet azote passe transitoirement à l'état d'ammoniaque, on trouve pour la production journalière intermédiaire d'ammoniaque en moyenne : 22 gr. 92.

A 500 grammes d'hydrate de carbone correspondraient donc seulement 23 grammes d'ammoniaque environ, c'est-à-dire une quantité d'ammoniaque 22 fois plus faible environ, en admettant, ce qui n'est nullement établi d'ailleurs, que tout l'azote protéique passe par cet état transitoire.

Il est facile de démontrer que de *très petites quantités d'ammoniaque* peuvent être transformées en urée par oxydation en présence de quantités beaucoup plus fortes de glucose.

Formation de l'urée par oxydation du glucose en présence de 2,4 centigrammes d'ammoniaque (1).

Cette expérience, dont la durée n'atteint pas 10 minutes, peut être aisément reproduite même dans un cours.

Un tube à essais contenant 0 gr. 17 de MnO^4K pulvérisé, reçoit rapidement 3 cent. cubes d'une liqueur titrée renfermant :

Glucose	0 gr. 10
Ammoniaque pure	0 gr. 024

Le mélange, fortement agité, s'échauffe et se solidifie en une masse brune.

Après addition de 2 cent. cubes d'eau, ébullition (quelques secondes) jusqu'à décoloration complète, on essore sur entonnoir à succion et lave le dépôt à l'aide de 2 cent. cubes d'eau. Du filtrat, traité par 4 cent. cubes d'acide acétique et 1 cent. cube de liqueur alcoolique de xanthydrol à 1/20, se séparent, en moins de 2 minutes, des flocons blancs d'uréine xanthylée cristallisée.

Formation de l'urée par oxydation du glucose et de 1 centigramme d'ammoniaque.

A. — Dans un tube à essais, de 1 centimètre de diamètre environ, contenant :

MnO^4K pur et pulvérisé	0 gr. 7

on introduit successivement :

Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c.c. = 0,00994) .	1 cent. cube.
Solution de glucose pur à 1/10.	1 cent. cube.

On secoue énergiquement le tube dans un plan vertical, pendant qu'une réaction violente et un dégagement intense de chaleur se produisent.

La mixture, pourvue de 2 cent. cubes d'eau, vigoureusement agitée, est portée quelques instants à l'ébullition. Après trituration avec une baguette de verre, chauffage et vérification qu'une parcelle du mélange, placée sur du papier humecté d'eau, ne lui communique plus de coloration violette, on intro-

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1912, t. CLIV, p. 1449.

duit dans le tube de l'acide acétique cristallisable (4 cent. cubes), agite et filtre.

Une portion de cette liqueur incolore, traitée par un peu de xanthydrol, dissous dans quelques gouttes d'acide acétique, se trouble en moins de 2 minutes, pour laisser apparaître de petits cristaux brillants, formés de filaments groupés, caractéristiques, d'uréine xanthylée (fort grossissement du microscope).

1 cent. cube de liqueur et 0 c.c. 10 de xanthydrol alcoolique 1/20 abandonnent des flocons d'uréine après 10 minutes environ.

B. — Le même résultat peut être obtenu sans qu'il soit nécessaire de chauffer le mélange.

Dans un tube à essais contenant :

MnO^4K pulvérisé	0 gr. 7
Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c.c. = 0,00994) .	1 cent. cube.

on place un agitateur, on mélange les deux produits puis on introduit :

Solution de glucose 1/10	1 cent. cube,

Le tout est aussitôt brassé énergiquement et l'opération poursuivie jusqu'à disparition complète de toute trace de coloration violette.

On essore sur un petit filtre à succion la bouillie brune, mélangée à de l'acide acétique (2 cent. cubes) et traite le filtrat incolore par un peu de xanthydrol dissous dans l'acide acétique.

L'uréine xanthylée commence à apparaître après 2 à 3 minutes.

CHAPITRE IV

FORMATION DE L'URÉE PAR OXYDATION DU GLUCOSE ET DE L'AMMONIAQUE PRISE A DES CONCENTRATIONS DU MÊME ORDRE DE GRANDEUR OU PLUS FAIBLES ENCORE QUE CELLES OU L'ON RENCONTRE CETTE BASE DANS L'ORGANISME

Voici, pour fixer les idées, un tableau qui représente la quantité d'ammoniaque contenue dans 1.000 grammes de sang ou d'organes frais de chien, d'après Horodynski, Salaskin et Zaleski (1).

(1) Horodynski, Salaskin et Zaleski., *Zeitschrift für physiol. Chem.*, 1902, t. XXXV, p. 246; *Chemisches Centralblatt*, 1902, 2, p. 290.

Ces résultats ont été obtenus avec beaucoup de soin, en titrant l'ammoniaque dégagée dans le vide, vers + 30°, par les liquides ou les tissus mélangés de magnésie pure, récemment calcinée.

	PENDANT LE JEUNE	PENDANT LA DIGESTION
Artère crurale	0gr 0042	0,0041
Veine porte	0,0129	0,0185
Veine pancréatique duodénale		0,007
Veine mésentérique supérieure	0,0095	
Veine iliaque commune	0,008	
Muscle	0,1436	0,1294
Cerveau	0,1119	0,1195
Rein	0,1507	0,1479
Muqueuse gastrique	0,2909	0,3649
Muqueuse intestinale	0,1872	0,3242
Foie	0,1751	0,2327
Pancréas	0,212	0,2209
Rate	0,1945	0,1458
Contenu de l'estomac		0,1976
Contenu de l'intestin		0,2644

Les solutions, soumises à l'oxydation dans les expériences qui vont être décrites, contiennent, avec la même teneur en glucose que le sang, des quantités variables d'ammoniaque; chacune d'elles renferme par litre 1 gr. 5 de glucose et une dose d'ammoniaque comprise entre 0 gr. 10 et 0 gr. 01.

Cinq séries d'expériences ont été instituées avec les titres suivants en ammoniaque par litre : 0 gr. 10 ; 0 gr. 08 ; 0 gr. 05; 0 gr. 025 et 0 gr. 01.

Formation de l'urée par oxydation d'une solution de glucose contenant 0 *gr.* 10 *d'ammoniaque par litre.*

On place au-dessus d'un bain-marie bouillant un ballon, dont le bouchon est traversé par un tube réfrigérant et un thermomètre, contenant :

Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c.c. = 0,000994)	100 cent. cubes.
Glucose pur	1 gr. 5
Eau, quantité suffisante pour	1.000 cent. cubes.

Dès que la température atteint 70°, on enlève le ballon du bain pour introduire

MnO^4K pur	10 gr. 5

On agite énergiquement, la réduction du caméléon commence et la température s'élève de quelques degrés au-dessus de 70°. Le vase est replacé au bain-marie et agité de temps en temps. Température maximum : 74°. Lorsque tout le permanganate a disparu, on essore à la trompe, acidule légèrement le filtrat incolore par de l'acide acétique et évapore au bain-marie dans une capsule évasée.

Le résidu sirupeux, introduit dans une éprouvette graduée, occupe un volume de 5 cent. cubes, on lui ajoute l'acide acétique provenant du lavage des parois de la capsule avec 5 cent. cubes de ce réactif. On rince encore le vase avec de l'acide acétique que l'on introduit ensuite dans l'éprouvette de manière à former un volume liquide de 10 cent. cubes. La liqueur filtrée et traitée par du xanthydrol acétique se trouble peu après. Une goutte examinée au microscope (fort grossissement) apparaît peuplée de cristaux étoilés d'uréine.

Formation de l'urée par oxydation d'une solution de glucose contenant par litre 0 *gr.* 08 *d'ammoniaque.*

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Glucose pur	1 gr. 5
Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c. c. = 0,000994)	80 cent. cubes.
D'où ammoniaque	0 gr. 07952
Eau distillée	920 cent. cubes.
MnO^4K	10 gr. 40

Mode opératoire. — La solution de glucose et d'ammoniaque contenue dans un ballon dont le bouchon porte un tube réfrigérant et un thermomètre, chauffée à 70°, est additionnée du permanganate, puis agitée. L'oxydation commence aussitôt et le thermomètre accuse une élévation de température de 2° environ.

Le mélange, plongé et chauffé dans un bain d'eau, prend et conserve la température de 71°. On agite de temps en temps. Après 2 heures, le permanganate ayant complètement disparu, on essore à la trompe et l'on évapore au bain-marie, à un très petit volume, le filtrat incolore légèrement acétifié.

Le produit mesure 5 cent. cubes, on étend son volume à 10 cent. cubes avec de l'acide acétique ayant servi à laver la capsule.

La liqueur, filtrée et traitée par du xanthydrol acétique, se trouble légèrement après 30 minutes. Après 20 heures on décante la partie liquide et traite le léger dépôt par quelques cent. cubes d'alcool. La partie insoluble est formée d'une multitude de petits cristaux d'uréine groupés en étoile.

Formation de l'urée par oxydation d'une solution de glucose contenant 0 *gr.* 05 *d'ammoniaque par litre.*

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Glucose pur	1 gr. 5
Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c.c. = 0,00094)	50 cent. cubes.
D'où ammoniaque	0 gr. 0497
Eau	950 cent. cubes.
MnO^4K	10 gr. 40

On opère exactement comme dans l'expérience précédente.

Le produit de l'évaporation (4 cent. cubes) est traité par son volume d'acide acétique contenant un peu de xanthydrol. L'uréine apparaît après quelque temps sous forme de petits flocons en suspension dans le liquide et en dépôt au fond du vase. Après 20 heures environ, on décante, délaye le résidu dans l'alcool et examine au fort grossissement du microscope une gouttelette du mélange. On y voit un grand nombre de petites masses sphériques, groupées en colonies, formées elles-mêmes de petits cristaux d'uréine réunis en étoile.

Formation de l'urée par oxydation d'une solution de glucose contenant 0 *gr.* 025 *d'ammoniaque par litre.*

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Glucose pur	3 grammes.
Liqueur titrée d'ammoniaque (1 c.c. = 0,00994).	5 cent. cubes.
D'où ammoniaque	0 gr. 0497
Eau distillée	2.000 cent. cubes.
MnO^4K	20 gr. 80

Dans la solution de glucose et d'ammoniaque portée à 68°, on introduit le permanganate et agite jusqu'à dissolution. Le liquide se trouble aussitôt en formant du peroxyde de manganèse, le thermomètre s'élève à 70°. On maintient cette température en chauffant au bain d'eau le ballon réactionnel surmonté d'un tube réfrigérant, on agite fréquemment.

Après 2 h. 45 de chauffage, la bouillie brune essorée donne une liqueur très légèrement teintée en rose, qui se décolore au bain-marie.

Le résidu sec de l'évaporation est épuisé par l'alcool absolu et le filtrat évaporé complètement dans une capsule de porcelaine. Des flocons d'uréine se déposent de la liqueur obtenue en lavant la capsule avec un peu d'acide acétique qu'on additionne ensuite de xanthydrol.

Formation de l'urée par oxydation d'une solution de glucose contenant un centigramme (0 *gr.* 01) *d'ammoniaque par litre.*

A. — Proportion des réactifs.

Glucose (1 gr. 5 × 4)	6 grammes.
Liqueur titrée d'ammoniaque pure (1) (1 c.c. = 0 gr. 001).	40 cent. cubes.
D'où ammoniaque	0 gr. 04
Eau	4 litres.
MnO^4K (10 gr. 4 × 4)	41 gr. 6

On opère comme précédemment. Après 5 heures de chauffage à 70°, le filtrat incolore est distillé *à sec* dans le vide au bain-marie. Les liqueurs provenant de l'épuisement du résidu par l'alcool absolu, évaporées à sec dans une capsule au bain-marie, ne laissent qu'un très léger enduit qui disparaît au contact d'acide acétique cristallisable.

La solution est additionnée d'un peu de xanthydrol sec puis de quelques gouttes d'eau. Le lendemain une gouttelette du liquide floconneux examinée au microscope montre des colonies de petites sphères, formées de petites aiguilles groupées en étoiles.

B. — Proportion des réactifs.

Glucose (1 gr. 5 × 5)	7 gr. 5
Liqueur titrée d'ammoniaque pure (1 c.c. = 0,001)	50 cent. cubes.
D'où ammoniaque	0 gr. 05
Eau	5 litres.
MnO^4K (10 gr. 4 × 5)	52 grammes.

Durée du chauffage à 70° : 5 heures.

Même mode opératoire que pour A.

Même résultat.

(1) Provenant du chauffage de l'oxalate d'ammoniaque pur avec de la potasse dans l'appareil Schlœsing.

QUATRIÈME PARTIE

DÉMONSTRATION DE LA PRÉSENCE DE L'URÉE CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Riche, Lacaze, Duthiers, Sirodot, Voit, P. Bert, Rabuteau et Papillon, Joly et Regnard, Frédericq, Krukenberg, Griffiths et Follows, Letellier, Lindeman, Halliburton, Rywosch, Henze et Sanzo ont signalé l'existence de l'urée chez les Invertébrés.

Dans son traité : *L'Urine* (1911), Neuberg mentionne que la présence de l'urée chez les Invertébrés n'aurait pu, dans aucun cas, être établie selon V. Fürth. Les expériences de Sanzo tendraient cependant à *rendre vraisemblable*, *jusqu'à un certain point*, la présence de ce corps chez les Échinodermes, les Mollusques et les Crustacés : « Das Vorkommen von Harnstoff bei wirbellosen Tiere ist, nach V. Fürth, bisher in keinem Falle bewiesen. Neuere Untersuchungen von Sanzo machen es allerdings bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich, das bei Echinodermen, Mollusken und Crustaceen auch der Harnstoff als Endproduct des Eiweisstoffwechsels vorkommt. »

Chez les Invertébrés, terrestres ou marins, que nous avons pu nous procurer, l'urée a été indiscutablement mise en évidence à l'aide de sa combinaison xanthylée :

$$O\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle CH-NH.CO.NH-CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O$$

Celle-ci a été obtenue en partant :

1° D'extraits alcooliques animaux, évaporés au bain-marie dans le vide;

2° De sucs cellulaires non concentrés, partiellement dépouillés de leurs protéiques, à froid, par l'acide acétique seul ou accompagné de chlorure de sodium;

3° De l'eau de source ou de mer, dans laquelle avaient vécu, plus ou moins longtemps, divers individus aquatiques.

1. CARACTÉRISATION DE L'URÉE A PARTIR D'EXTRAITS ALCOOLIQUES CONCENTRÉS DANS LE VIDE.

Écrevisse. — Dans 5 litres d'alcool acétifié à 1/1.000, on place

en macération, 24 heures, la bouillie résultant du broyage de 100 écrevisses vivantes (2 kilogr. 850), préalablement lavées, durant 4 heures, dans un courant d'eau.

Le produit solide de l'expression est soumis à deux traitements successifs semblables et la liqueur colorée obtenue, distillée à sec, au bain-marie, sous pression réduite. La solution du résidu de la distillation dans l'acide acétique, étendu de son volume d'eau (700 cent. cubes), est additionnée de xanthydrol (2 grammes). La même addition est répétée le lendemain ainsi que le surlendemain. La force centrifuge sépare du mélange un dépôt, peu important, et, en plus grande quantité, une matière surnageante, imprégnée d'huile. Le produit solide, rosé, débarrassé des graisses par l'alcool, épuisé par la pyridine dans l'appareil Soxhlet, donne une solution colorée, presque infiltrable et des cristaux qu'on isole par centrifugation, lave à la pyridine froide et dissout dans ce liquide à l'ébullition.

L'urée dixanthylée, suffisamment pure pour l'analyse, se dépose par refroidissement.

Dosage de l'azote (méthode de Dumas). Trouvé N p. 100 . . 6,81

Calculé pour $CO\left[NH{-}CH{<}{C^6H^4 \atop C^6H^4}{>}O\right]^2$ 6,66

Temps nécessaire pour produire la fusion-décomposition de la matière, enfermée en tube clos, plongé dans la vapeur d'oxyde de phényle en ébullition (261° corr.) : 8 minutes.

Rendement en produit pur : 0 gr. 70 environ.

2. Précipitation directe de l'urée a partir de sucs cellulaires non concentrés.

Ver à soie. — Des chenilles de ce Lépidoptère (250 grammes), préalablement lavées à l'eau, sont écrasées dans un mortier, en présence de 1/10 d'acide acétique. Le produit, contenant en assez notable quantité des fragments de feuilles de mûrier non digérées, est exprimé à la presse et le suc, encore trouble après centrifugation (188 cent. cubes), pourvu de xanthydrol (0 gr. 04).

Le dépôt, recueilli après 24 heures, purifié par les alcalis et l'alcool, cède à ce solvant à l'ébullition de l'urée dixanthylée, qui cristallise par refroidissement et nécessite pour fondre, en

se décomposant, 12 minutes de chauffage à 261° (corr.).

Des eaux-mères acétiques, on retire encore de l'uréine xanthylée, 24 heures après l'addition d'une nouvelle dose de xanthydrol. La recherche de l'urée, *par la même méthode*, dans la feuille de mûrier, privée de nervures, ne donne pas de résultat positif en opérant sur 250 grammes.

3. — Excrétion de l'urée par les Invertébrés.

Etoile de mer. — On tapisse complètement de ces phytozoaires le fond d'une cuve de verre et on les recouvre d'une légère couche d'eau de mer. Après 40 heures, les animaux étant encore bien vivants, le liquide d'immersion, de couleur rosée, est traité par 1/10 d'acide acétique, filtré et additionné de 0 gr. 2 p. 1.000 de xanthydrol dissous dans un peu d'acide acétique.

Le dépôt, recueilli le surlendemain, dissous dans l'alcool à l'ébullition contenant quelques gouttes de pyridine, donne des cristaux un peu rosés (0 gr. 01) nécessitant un chauffage de 8 minutes à 261° (corr.) pour être fondus en un liquide brun.

Deux expériences semblables, effectuées à une autre époque (1), ont conduit au même résultat positif.

L'eau utilisée dans cette expérience et dans d'autres du même genre, provenait du même réservoir et ne renfermait pas d'urée, décelable par la méthode employée pour précipiter cette substance des sucs ou des macérations animales.

4. L'urée a été identifiée chez les animaux qui suivent :

Cœlentérés.

Actinie. — Produits d'excrétion cédés à de l'eau de mer ambiante.

Échinodermes.

Étoile de mer. — Produits d'excrétion cédés à de l'eau de mer ambiante.

Vers.

Sangsue officinale. — Suc cellulaire. Produits d'excrétion.

(1) Au laboratoire maritime du Portel, aimablement mis à notre disposition par M. P. Hallez.

Crustacés.

Écrevisse. — Suc cellulaire de l'animal entier.

Suc cellulaire de la chair privée du foie et des autres organes.

Produits d'excrétion cédés à de l'eau de source.

Langouste. — Suc cellulaire.

Produits d'excrétion cédés à de l'eau de mer ambiante.

Crevette. — Suc cellulaire.

Insectes.

Ver à soie. — Suc cellulaire.
Fourmi. — Œuf.
Mouche. — Œuf.

Mollusques.

Escargot. — Suc de l'animal entier.

Produits de secrétion et d'excrétion.

Anodonte (1). — Eau incluse dans les écailles.

Produits d'excrétion cédés à de l'eau de source.

Moule. — Eau incluse dans les écailles.
Huître (*de Zélande*). — Eau incluse dans les écailles.

(1) Nous devons à l'obligeance de M. A. Malaquin d'avoir pu effectuer des expériences sur ce Lamellibranche.

(*A suivre.*)

ERRATUM

Dans la Première Partie de ce Mémoire, p. 590, après la 10me ligne (*Réactif de Tanret concentré*), ajouter la ligne suivante :

Eau, quantité suffisante pour obtenir un volume de 100 cent. cubes.

UNE AMIBE A PELLICULE, COMMENSALE D'UN LICHEN

par M. et Mme FERNAND MOREAU

(Travail du Laboratoire de M. Dangeard.)

Depuis le travail de Dujardin (1) sur les Infusoires vivant dans les Mousses, on a décrit un certain nombre d'Amibes étranges qui réussissent à mener une vie aéricole parmi les rhizoïdes et les tiges de ces végétaux à la faveur d'une membrane pelliculeuse mince, souple, mais résistante, qui leur permet de supporter plusieurs jours la sécheresse et de reprendre leur vie habituelle lorsque reviennent les jours humides. Elles se rapportent au groupe de l'*Amœba terricola* et constituent les « Amibes à pellicule » ainsi que les appelle Penard (2).

C'est une Amibe de ce groupe que nous avons rencontrée, non parmi les Mousses, mais parmi les hyphes d'un Lichen. Ce Lichen est un *Peltigera*, le *Peltigera polydactyla*, c'est-à-dire un Lichen terrestre, dont les thalles aplatis reposent sur le sol par une large surface. Il est constitué à la face inférieure par des filaments enchevêtrés, de grand diamètre, aux membranes souvent épaisses et qui forment les couches les plus inférieures du tissu connu sous le nom de médulle. Dans quelques-uns des exemplaires que nous avons examinés, ces hyphes inférieurs de la médulle étaient parasités par un Champignon qui entremêlait ses filaments à ceux du *Peltigera*, particulièrement sur les bords du thalle, à l'endroit où, se relevant légèrement, ils cessent d'être étroitement appliqués sur le sol. Il s'agissait d'un Discomycète, *Agyrium flavescens* Rehm, dont les filaments sont, au contraire de ceux de la portion avoisinante de la médulle du *Peltigera*, des hyphes de petit calibre. On verra bientôt quelle est l'importance de la présence de ce parasite et de sa structure pour l'Amibe pelliculeuse qui fait l'objet de cette note.

Celle-ci est une Amibe de petites dimensions, surtout si on

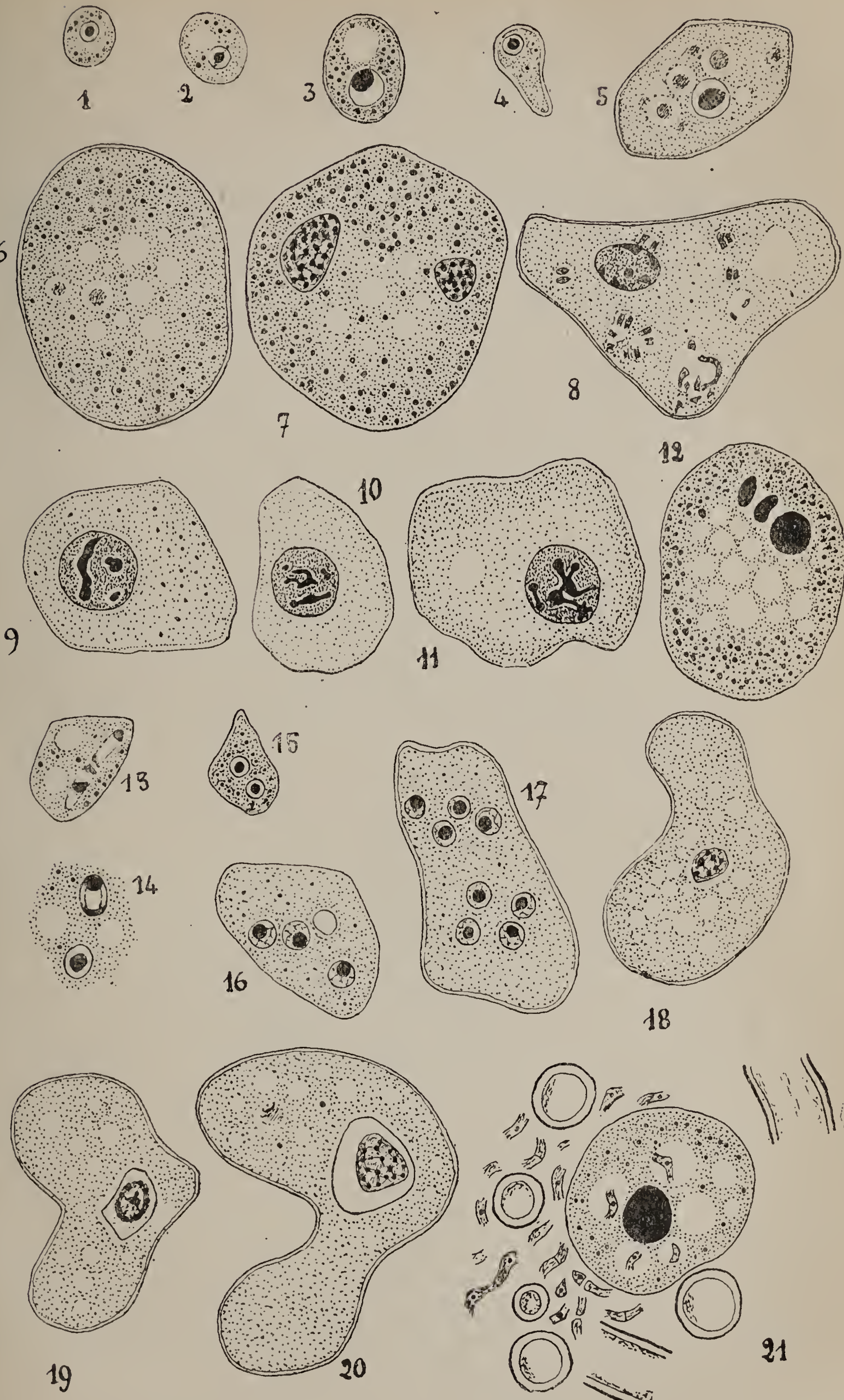
(1) Dujardin, Note sur les Infusoires vivant dans les Mousses, 1852.

(2) E. Penard, Observations sur les Amibes à pellicule. *Arch. f. Protist.*, Bd 6, 1905.

la compare aux Amibes géantes que sont, le plus souvent, les Amibes à pellicule. Sa taille, ordinairement de 15 à 20 μ, ne dépasse jamais 40 μ; elle mesure parfois 6 μ chez les exemplaires jeunes. Nous la considérons comme une forme naine de l'*Amœba sphæronucleolus* (Greeff) à laquelle elle ressemble par la plupart de ses caractères.

C'est une amibe sphérique ou subsphérique (fig. 1, 2, 3) rarement déformée, rarement pourvue de pseudopodes (fig. 4); c'est une Amibe paresseuse. Elle est entourée d'une pellicule hyaline, transparente, fine, souvent appliquée sur le protoplasme. Le protoplasme, granuleux et dense quand l'Amibe est jeune, se vacuolise, surtout au centre, quand elle vieillit (fig. 6, 7, 12). Il renferme un chromidium constitué généralement, dans les Amibes de petite taille, par une couronne pariétale de grains chromatiques (fig. 1) et, dans les Amibes plus âgées, par un grand nombre de chromidies répandues dans tout le protoplasme, moins abondantes cependant dans la région vacuolaire centrale (fig. 3, 6, 7 et 12). Le noyau est ordinairement unique, sphérique, entouré d'une auréole claire; il renferme, le plus souvent, un seul nucléole, gros, généralement arrondi et central (fig. 1,2, 4) rarement excentrique (fig. 3). Parfois ce nucléole s'étire, se lobe, se divise en fragments tantôt irréguliers, tantôt arrondis, entourés d'une auréole claire (fig. 8, 9, 10, 12); quelquefois il donne naissance à des sphérules réunies entre elles par des filets chromatiques, rectilignes, épais (fig. 11). Dans quelques cas, le noyau est représenté par une masse entièrement granuleuse (fig. 7); cet aspect, que nous n'avons rencontré que chez des Amibes déjà grosses, correspond peut-être à la naissance de chromidies aux dépens du noyau.

Nous avons observé certains stades de la division de ce noyau. Nous avons constaté son allongement en un cylindre pourvu de deux calottes polaires fortement chromatiques et présentant en son milieu deux disques de chromatine plus pâles (fig. 13); nous avons vu les deux noyaux-fils se présenter sous une forme allongée montrant à l'une des extrémités un nucléole arrondi, réuni par quelques filaments à une calotte de chromatine qui occupe l'autre extrémité (fig. 14); nous avons assisté à la reconstitution de ces deux noyaux qui prennent finalement la structure ordinaire à nucléole central.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

Grâce à ces phénomènes de division nucléaire, les plus grosses Amibes peuvent renfermer deux, quatre et jusqu'à huit noyaux (fig. 15, 16, 17). La division de l'Amibe intervient alors (fig. 18, 19, 20 : 3 coupes successives dans une même Amibe); il en résulte des Amibes de petite taille et uninucléées.

Non loin du noyau, le protoplasme de l'Amibe renferme une vacuole à peu près de la taille du noyau et qui se divise en même temps que lui, la vacuole contractile (fig. 2. 3, 13). Il renferme, en outre, des vacuoles digestives ; l'étude du contenu de ces dernières est de nature à nous renseigner sur la biologie de l'Amibe : La plupart contiennent des substances amorphes répondant sans doute aux « boulettes » de Penard (fig. 5, 6), mais dans quelques-unes on trouve des fragments de mycélium appartenant, non au Lichen, dont les hyphes médullaires voisins sont trop gros pour être absorbés facilement par l'Amibe, mais au parasite dont les filaments sont beaucoup plus ténus (fig. 8, 21); on les reconnaît à leur faible calibre et à leur structure à cellules courtes, uninucléées, à petit noyau et à membrane mince. Lors de la digestion, le mycélium devient méconnaissable et se transforme en une masse d'apparence homogène.

L'*Amœba sphæronucleolus* emprunte donc à l'*Agyrium flavescens* sa nourriture, ne demandant au *Peltigera* que l'abri. Grâce à sa petite taille, elle peut s'insinuer entre les hyphes du Lichen et du parasite mieux que ne pourraient le faire les autres Amibes terrestres ; elle est donc dans ce milieu exigu à l'abri de la concurrence qu'elle pourrait trouver dans les interstices des Mousses accessibles aux espèces plus grandes. Par son enveloppe pelliculeuse, qui lui permet de supporter les alternatives de sécheresse et d'humidité, et par sa taille réduite, elle présente donc des caractères d'adaptation très marqués à la vie parmi les filaments des Lichens, mais elle n'y peut vivre aisément qu'à la condition d'y trouver une proie qui soit conforme à sa taille; elle lui est fournie par l'*Agyrium flavescens*. Une quadruple association se trouve donc réalisée : elle comprend d'abord le Champignon et l Algue dont l'union constitue le Lichen *Peltigera*, puis le Champignon parasite, *Agyrium flavescens*, enfin l'*Amœba sphæronucleolus* qui emprunte à celui-ci l'aliment, à celui-là une demeure.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

T. XXX. — 1916. Décembre. — N° 12.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

PRIX DE L'ABONNEMENT. — PARIS : 18 francs; DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE, 20 francs.

Pour tout ce qui concerne la Rédaction, s'adresser directement au Bibliothécaire.
Pour les annonces, à l'Economat de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.
Pour les Abonnements, à la Librairie MASSON et Cie,
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS.

SOMMAIRE DU N° 12

30e ANNÉE DÉCEMBRE 1916 N° 12

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES

SUR

LA FLORE BACTÉRIENNE DES PLAIES DE GUERRE

par H. TISSIER

Médecin-major de 2e classe aux brancardiers de corps, 36e CA.

La flore microbienne des plaies de guerre est tellement importante à connaître qu'elle a dû, depuis le début des hostilités, faire l'objet de nombreux mémoires. Malheureusement, il est bien difficile, dans les circonstances présentes, de « faire de la bibliographie » et je n'ai pas cherché à donner dans ce travail une étude complète et originale de la question, probablement bien connue, à l'heure actuelle, mais à préciser certains points de détail de façon à donner au chirurgien le plus de renseignements possible.

Avant tout, je tiens à remercier, ici, M. le médecin inspecteur Boisson qui a encouragé et facilité ces travaux. Il m'a envoyé en mission dans un centre chirurgical de premier ordre dirigé par M. le médecin-major de Gaulejac, en qui j'ai trouvé le concours le plus éclairé et l'aide la plus précieuse. Sans lui, aucune de ces recherches ne m'aurait été possible.

I

Au début de la campagne, tous les médecins ont été frappés de voir qu'en dehors des complications banales des plaies, il en existait d'autres d'une gravité particulière, encore mal connues : infection putride, phlegmons gazeux, gangrène gazeuse, etc. Nous les avons tout d'abord attribués à la spécificité de certains germes. Telle plaie polluée de fumier ou de purin donnait lieu à des accidents plus graves et plus rapides, que telle autre uniquement salie de la terre des champs. De même les blessés allemands souillés souvent de matières fécales présentaient des plaies fétides et putrides, plus fréquemment que nos territoriaux plus propres et mieux tenus. Mais, au fur et à mesure de la transformation des méthodes de combat, nous fûmes obligés de faire entrer en ligne de compte un autre facteur de gravité de ces infections : le broiement des parties molles. Si les balles de shrapnell donnaient des plaies peu infectées, les éclats d'obus ou de torpille aérienne, écrasant les tissus, occasionnaient des blessures souvent compliquées d'accidents putrides.

Ces infections putrides des plaies de guerre peuvent se classer en deux catégories. Tantôt le mal est localisé. La plaie dégage une odeur d'abord fade, écœurante, puis fétide. Le muscle prend vite une teinte feuille morte caractéristique. Entre les tissus lésés on voit exsuder une sérosité roussâtre dans laquelle viennent éclater parfois de fines bulles de gaz.

L'état général du blessé est mauvais : teinte blafarde jaunâtre, presque subictérique de la peau, grand abattement, peu de température; mais un pouls rapide, filiforme.

Tantôt le mal a tendance à s'étendre. Il se forme, dans les tissus environnant la plaie, des infiltrations d'un œdème « gelée de groseille » avec fines bulles gazeuses, suivant les gaines des vaisseaux, décollant les plans musculaires. La peau environnante est sillonnée de longues traînées brunâtres : « lymphangite bronzée, érysipèle bronzé ». L'évolution de ces formes envahissantes est variable. Certaines peuvent évoluer

lentement, mais d'autres sont foudroyantes; en quelques heures le blessé succombe.

II

Dès qu'il m'a été possible d'approcher un laboratoire, j'ai rapidement pu me rendre compte que ces infections n'étaient pas le fait d'une espèce spécifique, mais de nombreuses bactéries, tant anaérobies strictes qu'anaérobies facultatives.

Parmi ces dernières, la plus fréquente est, sans conteste, l'*Entérocoque*, saprophyte de l'intestin de l'homme et des animaux, ferment mixte peptolytique très répandu dans la nature, qui, par inoculation aux animaux, se montre rarement pathogène C'est un microbe très polymorphe se présentant sous forme de cocci, de diplocoques, de chaînettes, de coccobacilles avec ou sans fausse capsule. Il peut donner lieu à des méprises.

A côté de l'entérocoque, il faut placer, par ordre de fréquence, le *Staphylocoque blanc*, ferment mixte protéolytique, pyogène, mais sans hémolysine; ensuite une variété de *B. mesentericus*, le « *fuscus* », ferment simple protéolytique attaquant faiblement le maltose, le lévulose, ne donnant avec le glucose qu'une acidité maxima de 1,76 p. 1.000 (en SO^4H^2). On le trouve fréquemment dans les débris de muscle sphacélé, dans le putrilage des grandes plaies. Il rappelle beaucoup la description donnée en 1902, par Legros, de son *B. septicus aerobius*.

On trouve encore, quoique plus rarement, le *Streptocoque pyogène vrai*. Je désigne sous ce nom le streptocoque à gros grains, à longues chaînes, ne troublant pas les milieux liquides, ne poussant pas sur pomme de terre, donnant une toxine et une hémolysine actives. Ajoutons le *Diplococcus griseus non liquefaciens*, ferment mixte peptolytique faible, microbe banal des putréfactions, le *B. pyocyanique*, ferment simple protéolytique, le *B. fluorescent vert*, ferment mixte protéolytique, puis d'autres espèces, plus banales encore : le *Micrococcus candidus*, la *Sarcina lutea*.

Mais les bactéries réellement dominantes dans les plaies récentes sont des anaérobies stricts : *B. perfringens*, *B. bifermentans*, *B. putrificus*, *Vibrion septique* et sa variété le bacille

sporogène, le *Coccobacillus præacutus*. A part cette dernière espèce, ferment mixte peptolytique, hôte habituel de l'intestin de l'homme, tous les autres sont remarquables par leur action chimique. Les deux premiers sont des ferments mixtes, les deux autres des ferments simples. Tous possèdent une diastase protéolytique puissante, une hémolysine et, sauf le *B. putrificus*, une toxine, en tous points comparables.

Comme nous l'avons vu (1), en 1902, avec Martelly, cette diastase adhère au corps microbien; il en est de même de la toxine. Les expériences classiques des élèves de Pasteur l'avaient amplement démontré pour le *Vibrion septique*. Pour le *B. perfringens*, mes expériences, anciennes ou récentes, m'ont toujours fait voir que ses cultures filtrées sur bougie ne causaient aucun trouble chez l'animal. Des doses de 10 cent. cubes et plus, pour un cobaye de 300 grammes, sont absolument inoffensives. On peut en dire de même pour le *B. bifermentans* et le *B. putrificus*.

Les inoculations de cultures complètes donnent, également, pour ces quatre bacilles, des résultats identiques. Ainsi 2 cent. cubes d'une culture très vivace : bouillon ordinaire ou gélatine liquéfiée, inoculée sous la peau ou dans la profondeur des muscles, ne produisent qu'un œdème dur, très sensible, qui progressivement devient moins douloureux et petit à petit se résorbe. Que ces bactéries proviennent de la terre, de viandes en putréfaction, de matières fécales, de plaies putrides, de « gangrène gazeuse », les résultats sont les mêmes.

Besson, avec des spores du *V. septique*, Vaillard et Vincent, avec des spores ou des formes jeunes du *B. tétanique*, avaient remarqué des faits analogues. On les expliquait par l'action des phagocytes empêchant la germination ou le développement des bacilles; mais cette phagocytose n'est-elle pas la même pour les aérobies et les anaérobies ? Pourtant les premiers seuls germent; il y a donc une autre cause qui vient s'ajouter à celle-ci pour empêcher le développement de l'anaérobie strict dans le tissu vivant. Comme cette germination se fait fort bien dans ce même tissu mort, on est obligé d'admettre

(1) H. Tissier et Martelly, Putréfaction des viandes de boucherie. Ces *Annales*, t. XVI, 865, 1902.

que c'est à la matière chimique circulante qu'est due l'action empêchante.

En effet, du sang frais donne toujours des cultures maigres; fait étrange pour des microbes si fortement protéolytiques. On y trouve de nombreuses formes sporulées, indice d'un développement gêné. Mais si l'on ajoute à la culture un aérobie quelconque, la putréfaction s'établit vite. Il est probable qu'il faut attribuer la plus grande part de cette action d'arrêt à l'oxygène contenu dans les globules rouges ou dans le milieu, et fixé de telle façon que l'action du vide ne peut l'en faire disparaître.

Le sérum lui-même, dépourvu de tout élément cellulaire, ne donne pas de résultats meilleurs, et un chauffage à 55° ne le rend pas plus apte à la vie anaérobie. La symbiose d'un aérobie facilite encore la culture; la teneur en oxygène y est, sans doute, encore trop considérable.

Le tissu vivant et sain n'est donc pas un milieu favorable au développement des anaérobies. Il faut que le terrain soit préparé pour qu'ils puissent y germer.

Les aérobies jouent dans ce cas un rôle capital. Par exemple, le *Vibrion septique*, seul, se montre inoffensif, à la dose de 2 cent. cubes de culture liquide, pour un cobaye de 450 grammes; avec du *Staphylocoque blanc*, il tue un animal de même poids en 20 heures; avec du *Staphylocoque* et du *B. mesentericus fuscus* en 6 heures. Débarrassé de ces aérobies, il redevient inoffensif.

Parfois, cependant, cette action de l'aérobie n'est pas suffisante pour assurer la germination du bacille putréfiant. L'œdème produit au point d'inoculation ne se développe guère; il s'ulcère et suppure. Après des délabrements plus ou moins grands dans la région touchée, l'animal guérit. Ces associations microbiennes ne sont donc pas toujours mortelles.

Les résultats sont plus constants quand on inocule dans un muscle altéré ou mortifié par des moyens mécaniques ou chimiques. La germination se produit de façon plus certaine.

Dès qu'un premier développement a pu se faire, l'anaérobie agira sur les cellules de son voisinage immédiat. Par son hémolysine et par sa toxine, il va créer autour de lui une zone de mort. Par sa diastase protéolytique il agira sur la cellule tuée; petit à petit, par d'autres actions diastasiques complexes, il

finira par causer, dans le tissu inoculé, un véritable foyer putride; action toute locale encore, sans grand retentissement sur l'état général.

Parti de la cuisse, par exemple, nous verrons un œdème dur, douloureux, s'étendre lentement au reste du membre, puis gagner « en tache d'huile » la paroi abdominale, puis l'autre membre postérieur, puis la région thoracique et enfin brusquement, comme si toute résistance cédait, l'animal meurt de septicémie.

Malgré tout, pour reproduire chez le cobaye des accidents semblables à ceux que présentent nos blessés, il faut non seulement inoculer en tissu écrasé, mais encore employer des cultures de nos bacilles putréfiants mélangés d'aérobies, reproduire, en un mot, ce qui se passe dans les blessures de guerre. On obtient alors chez l'animal soit des plaies putrides circonscrites, soit des plaies gangréneuses à tendance envahissante. La rapidité d'évolution du syndrome dépend uniquement de l'espèce aérobie surajoutée. Du *B. perfringens* mélangé d'*Entérocoque* tue le cobaye en 3 jours; avec du *Staphylocoque blanc* en 24 heures; avec du *Streptocoque vrai* en 15 heures.

Plus l'aérobie aura tendance à se répandre dans la circulation générale, plus vite se fera la septicémie par l'anaérobie, terme ultime de la maladie.

III

Voyons maintenant comment ces divers microbes vont se grouper dans les différents types cliniques de l'infection des plaies.

Dans les *plaies putrides circonscrites*, on trouve d'habitude, dans notre région des Flandres tout au moins, en plus des anaérobies stricts : *B. perfringens*, *B. bifermentans*, *B. putrificus*, *Vibrion septique*, de l'*Entérocoque*, du *M. candidus*, des *Sarcines*.

En procédant à des examens très rapprochés, on peut voir que, dans les premières heures qui suivent la blessure, 6 ou 8 heures en moyenne, la plaie saignante est presque aseptique. Il faut de larges ensemencements pour obtenir quelques rares

colonies. C'est vers la dixième heure que débute, en moyenne, la pullulation microbienne.

On voit d'abord des cocci, isolés ou en diplocoques, puis des bâtonnets immobiles, restant colorés par la méthode de Gram : *B. perfringens.*

Rapidement ces germes se mettent à pulluler et, entre la 12e et la 24e heure, leur développement devient considérable. De la plaie s'écoule alors un liquide séro-sanguinolent dégageant une odeur fade, écœurante; déjà l'état général du blessé est altéré.

Entre la 24e et la 48e heure le *B. perfringens* qui, depuis la 12e heure, était devenu l'espèce dominante, semble, à lui seul, composer toute la culture. L'odeur dégagée par la plaie devient fétide, le muscle prend la teinte « feuille morte », des bulles de gaz fines crépitent entre les masses musculaires mortifiées.

A côté du *B. perfringens*, on peut isoler le *B. bifermentans* et il n'est pas rare de voir, comme perdues au milieu des colonies lenticulaires de ces deux bacilles, apparaître lentement les colonies chevelues du *B. putrificus* et du *V. septique*. Plus se développera dans la plaie le processus putride, plus nous verrons s'accroître le nombre de ces dernières colonies.

Mais déjà dans le courant du 3e jour, soit sous l'influence du traitement, soit du fait de l'élimination des tissus mortifiés, le développement des anaérobies stricts semble s'atténuer. Le 4e jour cette atténuation est plus nette et, par une sorte d'alternance, ce sont les aérobies qui se développent au point que putréfiants et pyogènes sont alors en nombre égal. Vers le 5e et 6e jour, ces aérobies s'atténuent à leur tour, mais moins rapidement que les anaérobies stricts, dont les colonies sont, d'heure en heure, plus rares. Vers le 7e, 8e, 9e ou 10e jour, il n'est pas rare de les voir disparaître. Quant aux aérobies, les microbes de l'air disparaîtront d'abord, l'entérocoque survivra quelque temps encore aux anaérobies. Il n'en est pas de même pour les pyogènes vrais qui persistent pendant longtemps.

Vers le 10e jour, en moyenne, la plaie présente un minimum de germes ; mais, à partir de cette époque, on peut voir apparaître dans les cultures des bactéries nouvelles, acquisitions récentes ou apparitions tardives : *B. pyocyanique*, *B. fluores-*

cent vert. Nous étudierons plus tard cette seconde phase de l'infection des plaies de guerre.

Il est bien évident que tout se passe ainsi dans une plaie « traitée », mais si des débris de vêtement ou de projectiles restent enclavés dans la blessure, autour de ces corps étrangers, le processus putride continuera. On n'y trouvera alors, comme dans les putréfactions anciennes, que des ferments simples, *B. putrificus* et *V. septique*. Les aérobies persisteront, accrus de ces microbes d'infection secondaire.

Il existe des formes circonscrites moins graves encore que celle-ci; il en est où on ne trouve qu'une seule espèce anaérobie, le *B. perfringens*. Je n'ai jamais rencontré de plaie fétide récente ne contenant pas ce bacille.

Il existe également des blessures donnant de fines bulles gazeuses, mais sans la moindre odeur et sans le moindre caractère putride, ne présentant aucune gravité. Dans un cas de ce genre, je n'ai pu isoler aucun anaérobie strict, mais de l'*Entérocoque* et du *B. mesentericus fuscus*.

Dans les *plaies putrides à tendance envahissante* on trouve à côté des microbes ci-dessus de véritables pyogènes : *Staphylocoque blanc ou jaune*. Autour du foyer putride où pullulent nos anaérobies stricts et qui, par lui-même, a tendance à gagner lentement « en tache d'huile », s'établissent des traînées de lymphangite dues au pyogène. A la suite de ce dernier, les putréfiants pénètrent et leur acheminement s'accompagne d'une hémolyse intense, d'où sur la peau voisine ces longues traînées bronzées. Il est facile d'observer la succession de ces deux infections : lymphangite à staphylocoque et lymphangite à anaérobie. Si le chirurgien peut opérer à temps « en tissu sain », le processus gangreneux est arrêté, mais dans le moignon, l'infection à staphylocoque continuera son évolution.

Dans les formes envahissantes à évolution rapide on trouve encore, surajouté à toutes les autres espèces, le *Streptocoque pyogène*. On connaît la série des troubles causés par ce microbe; avec une bactérie aussi dangereuse il est facile de comprendre la gravité des accidents qui peuvent survenir. Non seulement elle facilitera la progression des anaérobies stricts le long des gaines vasculaires, mais par ses toxines, par son hémolysine,

elle aidera singulièrement la pénétration des bacilles de la putréfaction dans la circulation générale.

IV

On peut donc trouver dans les exsudats des plaies de guerre tous les microbes que nous avons isolés dans les putréfactions : *ferments mixtes* attaquant avec la même intensité les matières albuminoïdes et hydrocarbonées (*B. perfringens*, *B. bifermentans*) et ferments simples achevant la destruction des albumines (*B. putrificus*, *V. septique*). Ils apparaissent ici dans le même ordre et se comportent de la même façon. Dans l'un et l'autre cas, le rôle de destruction appartient aux anaérobies stricts; dans l'un et l'autre cas, les aérobies ont un rôle de préparation. Dans le tissu vivant ce dernier rôle prend une importance considérable; on peut même dire qu'il est essentiel.

Cette putréfaction dans les blessures de guerre est *évitable*. D'après ce que nous venons de dire et comme les chirurgiens ont pu s'en rendre compte, en enlevant le tissu broyé, en débarrassant la plaie de tous les corps étrangers, l'infection putride ne peut s'établir. Elle est, enfin, *curable*, quand on peut, à temps, aérer les tissus et, par des pansements très fréquents, assurer l'élimination constante des tissus mortifiés.

V

Quelles conséquences pratiques pouvons-nous tirer de ces recherches?

Tout d'abord il faut mettre le blessé, le plus rapidement possible, entre les mains du chirurgien; dans les dix premières heures si faire se peut. Avant la pullulation microbienne, les lèvres d'une plaie, débarrassée des tissus morts et de tous les corps étrangers, peuvent être réunies, au moins par des bandelettes adhésives. Il est facile de les rouvrir, si, quelques heures après, l'examen bactériologique décèle la présence de microbes pyogènes.

Quand l'infection putride s'est développée et pendant toute sa durée, le malade doit rester à l'avant, immobilisé dans une

ambulance chirurgicale. Une intervention rapide peut arrêter les complications les plus graves. Cette période d'immobilisation peut être en moyenne de 6 à 10 jours. Elle doit être au minimum de 4 jours.

Comme l'a bien montré Carrel, il faut tenter des réunions secondaires. On évite ainsi ces infections surajoutées qui immobilisent les blessés, pendant de longs mois, avec des suppurations interminables.

La présence du bactériologiste est donc utile au chirurgien, non seulement pour le renseigner sur le nombre des germes vivant dans la plaie, mais surtout sur leur nature. Comme nous venons de le voir, c'est de la présence de certaines bactéries aérobies, de leur symbiose avec les anaérobies stricts que dépend l'avenir de la blessure.

Nous nous étions inspiré de ces données dans la série de recherches que nous avions commencées avec M. de Gaulejac et les chirurgiens de son ambulance et les résultats obtenus étaient encourageants.

Le simple examen des faits avait déjà conduit les chirurgiens dans cette voie et, sous l'impulsion des uns et des autres, de grands progrès ont été réalisés dans le traitement des plaies de guerre. Nous avons vu se produire une véritable transformation, autour de nous ; mais les progrès ne seront constants que par la collaboration du chirurgien et du bactériologiste.

Septembre 1916.

HISTOIRE DE LA CORDE DE BOYAU

par A. GORIS.

L'emploi des cordes et, en particulier, de la corde de boyau, dans les instruments de musique, date de l'Antiquité la plus reculée. Toutefois nous ne pouvons savoir si les plus vieux instruments à cordes, les *Ravanastron* (1), spéciaux aux indigènes de Ceylan, vivant 5.000 ans avant notre ère, possédaient des cordes de boyau. Les peuples d'Orient préféraient surtout les cordes en soie et cette préférence s'est maintenue jusqu'à nos jours. Dans les pays d'Occident, au contraire, les cordes de boyau et de métal étaient surtout employées. Les cordes, primitivement en lin, de la harpe (2) des Assyriens, Hébreux, Egyptiens furent peu à peu remplacées par des boyaux de mouton ou de chèvre, de gazelle, de chameau (3). La lyre et la cithare qui charmaient les loisirs des Grecques étaient également garnies de cordes de boyau (*χορδαί*) (4). L'*hymne à Hermès* dit en parlant du Dieu : *Ἑπτὰ δὲ συμφώνους ὀΐων ἐτανύσσατο χορδάς* (5).

D'ailleurs, l'étymologie du mot indique que les Grecs devaient faire un usage fréquent de cette corde. Le mot *χορδή* veut dire « boyau ». C'est le sens que lui attribue Homère dans la *Batrachomyomachie* (6). Ce n'est que secondairement et par extension qu'il a servi à désigner la corde faite avec ces boyaux (7). Le nom latin *chorda* a, d'ailleurs, la même signifi-

(1) L'invention des *Ravanastron* est attribuée à RÂVANA qui, dans la mythologie indienne, est un puissant roi des Râkclasas.

(2) Les harpes comprennent encore actuellement 35 cordes de boyau.

(3) HOMÈRE. *Odyss.*, XXI, 407.

(4) DAREMBERG, SAGLIO et POTTIER. *Dictionnaire des antiquités grecques et romaines*, article LYRA, p. 1443. Paris, 1904.

(5) *Hymm. ad Merc.* 51 ; cf. *Od.* XXI, 408.

(6) HOMÈRE. *Batrach.*, 224 : Παρ' ἠϊόν ἐξετανύσθη χορδῇσιν λιπαρῇσι τ' ἐπορνύμενος λαγόνεσσιν.

(7) Pour les auteurs qui ont employé le mot χορδή, dans ce sens, consulter : HENRI ESTIENNE, *Thesaurus linguæ grecæ*.

cation et nous le retrouvons chez tous les auteurs de la bonne latinité avec ce sens précis (1). Des mots χορδή, *chorda*, nous avons tiré le substantif « corde » qui sert à désigner un assemblage de fils tordus ensemble sans préjuger de la nature des matériaux, de sorte que, lorsque nous voulons désigner la *chorda* des anciens, nous devons compléter notre appellation par un qualificatif rappelant l'origine du produit.

L'emploi de la corde de boyau s'est généralisé peu à peu pour tous les instruments de musique, aussi bien pour ceux que l'on pince avec les doigts que pour les instruments à archet. Au Moyen âge le commerce de ces cordes devait être considérable si l'on en juge par le nombre d'instruments dont on jouait tant en Grèce qu'en Italie, Espagne et France. C'étaient les lyres et les cithares d'origine grecque, les rebabs venant d'Arabie, les vielles à archet, les violes albines, les gigues allemandes, les guitares originaires d'Espagne, les trompettes marines chères à M. Jourdain (2), les *viola da bracio* et *viola da gambo*, précurseurs du violon et du violoncelle et enfin les violons qui firent leur apparition vers 1550 tout d'abord en Italie, puis en France (3).

De bonne heure, la corde de boyau fut destinée à d'autres usages que celui de la musique. Ses qualités de souplesse, d'élasticité et de résistance l'indiquaient pour divers emplois industriels parmi lesquels nous citerons les armes de jet (arc (4), arbalète) et les raquettes de jeux.

> Les chordes des raquettes sont faictes de boyaux de moutons ou de chevres. La machine ronde est la pelote ou l'estœuf. Après le jeu on se refraischit devant un clair feu et change l'on de chemise. (RABELAIS, I, 58.)

(1) CICÉRON. *De Or.* 3, 57, 214; *N. D.* 2, 59; — LUCRÈCE, 2, 412, 505; 4, 586, 982; — TIBULLE, 2, 5, 3; 3, 4, 70. — HORACE, *Od.* IV, 9, 4; *Sat.* 1, 3, 8; OVIDE. *Am.* 2, 4, 27; *Met.* 5, 340; 10, 145.

(2) M. JOURDAIN. « Il y faudra mettre aussi une *trompette marine*. La trompette marine est un instrument qui me plait et qui est harmonieux ». (MOLIÈRE, *Le Bourgeois gentilhomme*, acte II, scène I.)

(3) Le violon a été introduit en France en 1550 aux fêtes offertes par la ville de Rouen à Henri II et Catherine de Médicis. (A. VIDAL. *Les instruments à archets.* Imprimerie J. Claye, 1876.)

(4) La corde des arcs et arbalètes ne devait pas être entièrement en corde de boyau; ainsi, l'arc dit *turquois* possède une corde de chanvre filée de soie terminée par deux longues boucles en boyaux bridée sur cale (GAY. *Glossaire archéologique du Moyen âge*, Paris, 1882-1887, p. 49).

Dans le *Bon Berger* de Jean de Brie (1) (1541) nous trouvons, pour la première fois cités, les usages de cette corde.

Les boyaux sont bons et prouffitables à faire plusieurs cordes grosses et menues, les grosses pour mettre en ars, en espringales et aultres engins à jecter, ou au moins pour mettre ès instrumens de quoy l'on bat la laine pour faire menue, pour la draperie, que l'on appelle archonner. Les menues cordes des boyaux bien lavez, séchez, tors, rez, essuez et filez, sont pour la mélodie des instrumens de musique, de vielles, de harpes, de rothes, de luthz; de quiternes, de rebecs, de choros, de almaduries, de symphonies, de cytholes et de aultres instrumens que l'on fait sonner par dois et par cordes.

Malicieusement, l'auteur ajoute qu'il serait intéressant de faire des cordes avec les boyaux des loups et des brebis pour voir si l' « accord parfait » pourrait ainsi s'obtenir.

Dont pour la différence des choses et pour la variation des courages et de la manière de vivre qui a esté et est entre les brebis et les loups, bon seroit à esprouver cordes de boyaulx desdictz loups pour mettre en aulcuns bas instrumens, avec cordes de boyaulx de brebis ou de chèvres, pour sçavoir se ils se pourroient accorder ensemble. Et crois, lecteur, que non.

Peu à peu cet usage se répandit davantage. Aussi, en 1656, les boyaudiers demandèrent à être érigés en corporation. Nous trouvons dans leur requête au roi l'exposé des motifs qui les poussent à demander l'autonomie. Ces motifs sont reproduits textuellement dans l'article I du Statut des boyaudiers (2) et la lecture en est très intéressante, car nous y voyons que les chirurgiens se servaient déjà de la corde de boyau.

Art. I. — Premièrement pour la conservation des intérest de ceux qui dès les premières années de leur jeunesse se sont rendus habiles dans l'exercice de leur métier et affin que lesdits Maîtres Chapeliers, Raquetiers, Lapidaires, Tireurs d'or, Serruriers, Armuriers, Passementiers, Horlogers, Chaudronniers, Potiers d'étain, Tabletiers, Boisseliers, Tourneurs, Boutonniers, Cordiers de chanvre, *Chirurgiens*, Couteliers, Fourbisseurs, Patenotriers, Faiseurs d'instruments, Oyseliers, Fileurs de laine, Faiseurs de cordons, Tissutiers, Rubaniers, Arbalestriers, Chaivaitriers, Couverturiers, et autres Artisans de notre dite ville et fauxbourgs de Paris en pussent raisonnablement tirer le soulagement qu'ils en ont perpétuellement ressenti. Nous voulons que lesdits Maîtres, faiseurs de toutes sortes de *cordes à boyaux* qui ne sont à présent qu'au nombre de sept, sçavoir : Christophe Lampérier,

(1) Le *Bon Berger* par Jehan de Brie (1541). Nouvelle édition, P. Lacroix (Bibliophile Jacob), Paris 1879, p. 34-35.

(2) *Statuts des boyaudiers*. Lettres patentes de Louis XIV confirmatives et Arrest dudit Parlement qui en ordonne l'enregistrement. May 1656 et 11 janvier 1659. *Collect.* Lamoignon, t. XIII. p. 585.

François Legendre, Claude Didelot, Pierre Charon, Bernard Filotte, Pasquier Chéron, Jean Noisette, soient huit seulement à l'avenir, sans que le nombre puisse être augmenté par l'ordre des juges ordinaires.

Les chirurgiens du grand siècle se servaient de cette corde pour la fabrication des bougies urétrales. Employées nues, elles offraient l'inconvénient de se gonfler inégalement, aussi Ledran avait-il eu l'idée de les revêtir d'un linge couvert d'une substance emplastique (1).

L'utilisation de la corde comme accessoire de chirurgie remonte à 1814 et ce fut A. Cooper qui eut le premier l'idée de recourir au catgut pour les ligatures vasculaires (2). Depuis, l'emploi va sans cesse grandissant, car tous les chirurgiens du monde l'ont adopté.

Toutefois, les instruments de musique et les raquettes de jeux constituent encore le plus grand débouché de la corde de boyau. C'est pourquoi la préparation de la corde chirurgicale, qui demande des soins spéciaux, a toujours été négligée.

Primitivement, les cordes devaient être préparées par les intéressés, mais, peu à peu, des artisans se spécialisèrent dans cette fabrication. Nous ne connaissons rien de sa préparation, ni de l'industrie des *χορδοποιοί* ou *χορδοστρόφοι*, mais les manipulations devaient être très rudimentaires et peu connues des écrivains. Dans l'épigramme d'Agathias (*Anth.* XI, 352), il est dit que les cordes de la lyre sont faites avec les boyaux d'une brebis séchés ensemble. Il n'est toutefois pas douteux qu'il existait en Grèce des ouvriers spécialistes, qui transmirent leurs méthodes de travail et leurs procédés dans les pays avoisinants.

Au XIIe siècle nous retrouvons cette industrie en Dalmatie où des ouvriers établis à Cattaro fournissaient aux Vénitiens les cordes de boyaux pour instruments de musique qu'ils revendaient dans toute l'Italie (3). Rabelais la signale plus tard dans le golfe de Trieste.

(1) *Dictionnaire des Sciences médicales*, en 60 volumes, t. IV, p. 349, 1813.

(2) E. Quénu, Rapport sur la fabrication du catgut. *Bull. Acad. Méd.* (séance du 9 mai 1916), t. LXXV, 539-558.

(3) Pouqueville, *Histoire de la régénération de la Grèce*, t. II, p. 73, Paris, 1825.

Des boyaulx, on fera chordes de violons et harpes, lesquelles tant cheurement on vendra, comme si feussent chordes de Munican ou Aquilée (1).
(Rabelais, IV, Chap. VI.)

De là, cette industrie se répandit dans toute l'Italie et principalement à Rome et à Naples. Actuellement encore, les chanterelles de Naples, bien qu'elles ne soient plus préparées spécialement dans cette ville, jouissent d'une renommée mondiale. La dénomination commerciale a prévalu, attestant le degré de perfection auquel étaient arrivés les Italiens. On prétend, bien à tort d'ailleurs, que ces cordes devaient leur réputation à ce qu'elles étaient préparées à l'époque de Pâques, pendant laquelle les Napolitains consommaient une très grande quantité d'agneaux.

L'industrie de la corde harmonique fut introduite en France, à Lyon. Elle s'étendit à Toulouse et Bordeaux.

Les cordes harmoniques faisaient partie du négoce de la corporation des merciers (arrêté du 3 juillet 1692), mais il était permis aux faiseurs d'instruments d'en faire venir et d'en vendre, pourvu que ce fût celles propres à leur instrument.

Lyon fournissait une quantité prodigieuse de cordes assorties pour tous les instruments ; il s'en faisait un très grand commerce à Paris et des envois considérables dans les pays étrangers, particulièrement en Hollande, Angleterre, Espagne, Portugal, Allemagne et dans tous le pays du Nord. Ces produits payaient un droit de sortie et un droit d'entrée, s'élevant à 3 livres du cent pesant pour la sortie et 10 livres du cent pesant pour l'entrée (1664) (2).

Les cordes lyonnaises étaient peu estimées pour les chanterelles et secondes ; elles n'étaient ni si fortes, ni si bien fabriquées que celles d'Italie et de Toulouse qui nous arrivaient dans des paquetages spéciaux. On distinguait par ordre de mérite : les cordes romaines, les cordes forestières préparées aux environs de Rome et les cordes de Toulouse en troisième lieu. L'industrie toulousaine a disparu et Lyon a depuis relevé sa réputation.

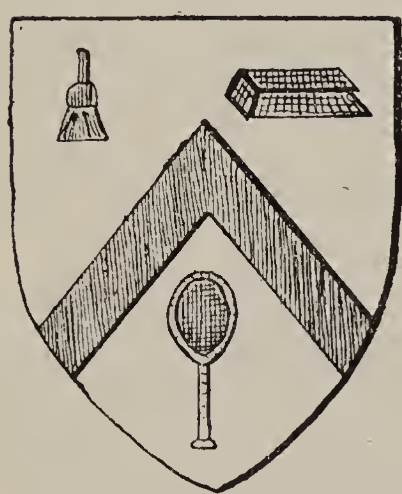
(1) Aquilée, Port du golfe de Trieste. — Munican, c'est probablement la ville de Munich.

(2) J. Savary des Bruslons, *Dictionnaire universel de Commerce*, t. I, col. 1519, Paris, 1723.

Alors que Lyon, Toulouse et Bordeaux étaient les centres de la production des cordes harmoniques, il existait à Paris et à Rouen une industrie de la corde de boyau qui semble avoir été dans ces villes de beaucoup antérieure à celle des cordes d'instruments de musique.

La corporation des *vergettiers*, *brossiers*, *racquettiers* avait dans ses prérogatives le droit de préparer cette corde. Ce sont les précurseurs de nos boyaudiers.

Cette corporation très ancienne dont l'écusson était « d'argent à un chevron de gueules, accompagné en chef d'une brosse de même à dextre, d'une vergette de sable à senestre et en pointe d'une raquette de même, cordée de gueule posée en pal le manche en bas », occupait le quatrième rang dans la classification des corporations (1). On pourrait s'étonner que ce fût une corporation de vergettiers, brossiers qui eût le monopole de la fabrication de la corde de boyau, mais le *Bon Berger* de Jehan de la Brie nous a prévenu que cette corde sert à « mettre ès instruments de quoy l'on bat la laine, etc. ». Les vergettiers, brossiers, qui fabriquaient tous les ustensiles destinés au nettoyage, devaient donc préparer



Écusson de la corporation des *vergettiers*, *brossiers*, *racquettiers*.

(1) R. DE LESPINASSE, *Histoire générale de Paris. Les métiers et corporations de la ville de Paris*, t. I, p. 96-98.

« De tous les arts et mestiers qui s'exercent tant en la ville et fauxbourgs de Paris et autres esquelz lesdits arts et mestiers sont à présent jurez....., lesquels arts et mestiers sa Majesté a distingués et séparés selon la bonté et la valeur d'iceux en cinq rangs pour plus prompte exécution dudit édit.

Premier rang qui sont des meilleurs mestiers. — Apothicaire *, espicier, affineur, drapier, mercier, joyaulier, etc...

Deuxième rang qui sont les mestiers d'entre les meilleurs et mesdiocres. — Barbier, boucher, bonnetier, chasublier, etc...

Troisiesme rang qui sont les mestiers médiocres. — Armurier, ballancier, etc.

Quatriesme rang qui sont les mestiers d'entre les mesdiocres et petits. — Vergettiers, racquettiers, faiseurs de vergettes à nettoyer, etc...

Cinquiesme rang qui sont les petits mestiers. — Estœuviers, paulmiers, langueyeurs de porcs, etc...

(Rolles arrêtés au Conseil d'État du roy le 5 juillet 1582.)

* Par la suite les apothicaires occupèrent le second rang parmi les corporations.

l'*arçon* ou *archon* servant aux chapeliers et aux drapiers pour nettoyer la laine ou les draps. Que par la suite ils fussent amenés à se servir de cette corde pour la fabrication de raquettes, il n'y a là rien que de très naturel, mais il semble bien qu'il n'y trouvèrent qu'une source d'ennuis. Nous en trouverons la preuve dans les renouvellements fréquents de leurs statuts.

Les premiers statuts furent donnés par Jacques Estouteville (1) en 1486. Ils leur furent confirmés plusieurs fois de suite, notamment par Charles IX (2) en 1571, puis par Henri III, Henri IV (3), Louis XIII, Louis XIV (4). Dans les lettres patentes de Charles IX nous trouvons un paragraphe qui nous laisse supposer que déjà, à cette époque, les vergettiers, brossiers étaient en butte à des réclamations de la part d'autres corporations concernant la fabrication de la corde de boyau :

> *Item* pourront les Maîtres de chefs d'œuvre, faire et faire faire la corde à raquette par telle personne qu'il leur plaira, *attendu que c'est un même métier et que anciennement ils l'ont toujours faite.* (*Collect.* Lamoignon, t. VIII, 580.)

Les lettres patentes accordées par Henri IV font voir en effet, que des difficultés durent s'élever entre les étœuviers (5) et les vergettiers, raquettiers, brossiers, puisqu'il y eut, en 1580, un Arrêt du Parlement rendu contradictoirement entre les deux corporations et en 1632 un autre Arrêt contradictoire entre les boyaudiers et ces raquettiers.

Pour qui sait combien les corporations étaient jalouses de leurs prérogatives, il n'y a aucun doute que des discussions

(1) Ordonnance de Jacques Estouteville, ratifiant statuts et règlements des vergettiers de la ville de Paris, 21 janvier 1486. *Livre des Bannières*, 708.

(2) Premiers statuts des Racquettiers et Lettres patentes de Charles IX confirmatives. *Collect.* Lamoignon, t. VIII, 576.

(3) Lettres patentes de Henri IV du mois de novembre 1599 par lesquelles il confirme purement et simplement aux Racquettiers leurs statuts du mois de février 1571 confirmés par Henri III le dernier septembre et un Arrêt du Parlement rendu contradictoirement le 29 mars 1580 entre les Racquettiers et Etœuviers. *Collect.* Lamoignon, t. X, 118.

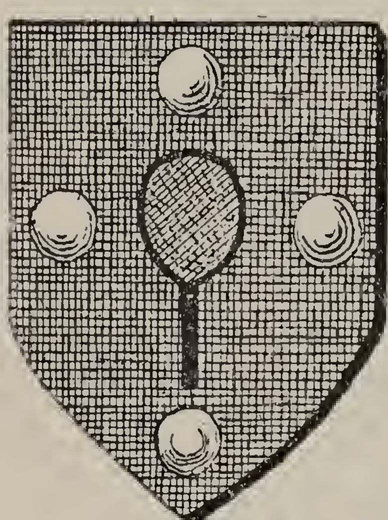
(4) Lettres patentes de Louis XIII du mois de juillet 1613 par lesquelles il confirme purement et simplement aux Racquettiers leurs statuts. *Collec.* Lamoignon, t. X, 837.

(5) L'estœuf est la balle ou ballon du jeu de paume. Les *paulmiers* se sont d'abord appelés « faiseurs d'estœuf, estœuviers ».

très âpres durent se produire entre les représentants de ces deux métiers.

Les paulmiers portaient « de sable, à une raquette d'or posée en pal, le manche en bas, accompagné de quatre balles d'argent, une en chef, deux aux flancs et une en pointe ».

Les deux corporations avaient donc une raquette dans leurs armes et ce fut probablement le point de départ de la discorde. La raquette du jeu de paume devait être primitivement en cordes de chanvre et ce n'est que secondairement que la corde de boyau fut employée. Les deux raquettes étaient d'ailleurs différentes ; les dessins suffiraient à nous en prévenir si nous n'avions des textes précis pour nous le confirmer. Dans les Statuts accordés par Louis XIV aux vergettiers, raquettiers, brossiers (1) on trouve, en effet, une indication sur la qualité de la raquette qui devra être fournie :



Écusson
de la corporation des *paulmiers*.

Art. 33. — Les bois pour raquettes seront sains, et bien nets, cordés de bonne corde, les montants à douze fils et les travers à six fils.

Or, dans les Statuts des paulmiers racquettiers en 19 articles et lettres patentes de Charles IX, on lit (2) :

Art. 11. — Que aucun maistre dudit mestier ne sera reçu, si préalablement, il ne fait le chef-d'œuvre ainsi qu'il suit ; premièrement il fera une petite raquette et une grande raquette garnie de douze montans tous d'une pièce et vingt et un travers ; une grande raquette à nacqueter (3) ; une raquette de seize montans garni de vingt quatre travers ; une raquette à vingt montans et trente travers. Une raquette double, le tout sans rompeure ni renouère de nulle corde, jusqu'à l'achèvement de ladite corde.

Il n'y a donc aucun rapport entre les deux instruments. Les vergettiers voulurent probablement faire les raquettes pour lesquelles ils fabriquaient la corde de boyau et cela avec

(1) Statuts des vergettiers, raquettiers, brossiers, en 50 articles et lettres patentes de Louis XIV qui les confirment. Juin 1659.
(2) R. de Lespinasse, *loc. cit.*, t. III, 518-525, 1897.
(3) « Nacquetter », terme du ieu de paume.

d'autant plus de raisons qu'ils faisaient eux-mêmes des raquettes destinées à un autre usage (1).

L'industrie de la corde de boyau destinée aux jeux dut être florissante, si l'on en juge par l'importance que prit le jeu de paume au XVII[e] siècle (2). Les diverses ordonnances de police reflètent l'engouement qu'il y avait alors pour ce jeu. C'est à cette époque d'ailleurs que les paulmiers obtinrent l'autorisation d'avoir un jeu de billard dans leur établissement, « ce qui sert d'occupation à ceux qui viennent jouer à la paume en attendant leur partie » (3).

Il semble y avoir eu partie liée entre les paulmiers et ceux qui, parmi les vergettiers, s'étaient plus spécialement adonnés à la fabrication de la corde de boyau.

En mai 1656, les boyaudiers (4) s'érigent en corporation autonome et reçoivent de Louis XIV leurs lettres patentes (5). Le nombre des maîtres est de sept et le roi autorise la création de huit boyauderies. Or, le 8 août 1656, le roi autorisait cette fois les paulmiers à établir une corderie de boyau à la Butte Chaumont pour les besoins de leur industrie (6).

(1) La « raquette » était aussi appelée « ramonette » ou « raymonette » (*Tariffe général* 27 octobre 1732). Il y avait des raquettes pour le jeu de paulme ou pour le *jeu de volant*. Rouen produisait beaucoup de ces dernières.

(2) Le livre de la taille de Paris en 1292 comporte treize paumiers ; en 1642 on en comptait 27. Il n'y en avait plus que 18 en 1756.

(3) Arrêt du Parlement du 20 août 1647 confirmé par Lettres patentes de Louis XIV de novembre 1676, autorisant les maîtres paumiers d'avoir un jeu de billard qui sert d'occupation... *Collect.* Lamoignon, t. XVI, 613.

Ordonnance de police du 30 mars 1708 qui fait défense aux maîtres paulmiers d'attirer et avoir des écoliers dans leurs jeux de paulme et de billard. *Collect.* Lamoignon, t. XXIV, 40.

Ordonnance de police du 9 janvier 1731 qui fait défense aux Maîtres paulmiers d'attirer et avoir des soldats en leurs jeux de paulme et de billard. *Collect.* Lamoignon, t. XXIX, 22.

Ces deux ordonnances nous montrent que l'engouement pour le jeu de paume était en décroissance, puisque les maîtres paulmiers étaient obligés de racoler les clients.

(4) « Boyaudier » est le nom que les ouvriers se donnent eux-mêmes dans les statuts. Peu à peu ce mot a subi une déformation. Dans le Dictionnaire de Furetière on trouve le mot « Boyautier ». Delamare, en 1737, écrit « boyotier ». Nous avons retrouvé cette orthographe dans une ordonnance de police du 15 octobre 1734. — *Collect.* Lamoignon, t. XXXI, 150.

(5) Statuts des boyaudiers en 22 articles et Lettres patentes de Louis XIV confirmatives et Arrest dudit Parlement qui en ordonne l'enregistrement. — *Collect.* Lamoignon, t. XIII, 585, may 1656 et janvier 1659.

(6) Arrest du Parlement qui ordonne l'enregistrement des Lettres patentes du mois de juillet 1656 portant permission aux maîtres paulmiers d'établir une corderie de boyau à la Butte-Chaumont, 8 août 1656. — *Collect.* Lamoignon, t. XIII, p. 761.

Ledit seigneur aurait concédé et accordé aux jurés et communautés des maîtres paulmiers de cette ville de Paris, la permission de faire faire par telles personnes que bon leur semblerait et ladite corde à boyau en telle quantité qu'ils aviseraient bon estre pour l'usage et leur mestier en la place sise au-dessous de la Butte Chaumont et non autre lieu.....

Ladite cour a ordonné et ordonne que lesdites lettres soient registrées..... pour jouir par les impétrans de l'effet et contenu en icelles, selon leur forme et teneur comme toutes autres personnes de leur métier à la charge que la corde à boyau qui sera faite ne pourra être employée que pour l'usage desdits impétrans.

Les paulmiers avaient donc leur usine et les raquettiers ne pouvaient s'immiscer dans le travail des autres boyauderies ainsi que le confirme l'article XV du Statut des boyaudiers annexé à la fin de cet article.

Toutefois, malgré l'autonomie accordée aux boyaudiers et la création d'une boyauderie spéciale pour les paulmiers, les vergettiers gardaient le droit de vendre la corde à boyau pour certains usages. Les statuts qui leur furent accordés par Louis XIV en 1659, trois ans après celui des boyaudiers, sont explicites à ce sujet.

Art. 31-32. — Les maîtres vergettiers vendront aux cordonniers et selliers toutes les marchandises de leur métier, corde à boyau et autres sans pour cela être maîtres boyaudiers.

La corporation des boyaudiers exista jusqu'en 1776, et fut rendue libre par un édit de Maurepas enregistré le 28 août de cette année (1). Ce fut une association très fermée puisque les fils de maître pouvaient seuls aspirer à la maîtrise (art. 14). Sainte Barbe était leur patronne (2) ; à première vue ce choix

(1) Etienne Martin Saint-Léon, *Histoire des corporations de métiers*. Paris, Guillaumin. 1897, p. 487.

(2) Sainte Barbe était invoquée contre la mort subite. Tous ceux qui avaient une profession dangereuse, comme les salpêtriers, ou s'adonnaient aux jeux violents, avaient donc choisi cette sainte pour patronne. Les vergettiers, raquettiers, brossiers, puis les boyaudiers qui faisaient de la corde de boyau susceptible d'être employée pour les arbalètes pouvaient donc revendiquer son patronage. Les paulmiers qui pratiquaient un jeu violent l'avaient également choisie. Leur fête était le 2 août, anniversaire de la translation des reliques de la sainte, car la fête de cette martyre étant au mois de décembre, « l'hiver n'est pas propice aux solennités joyeuses ». La statue de la sainte se trouvait en l'église des Mathurins. Un plomb historié du XVe siècle a été trouvé au pont Saint-Charles en 1857. Au verso, on y voit le martyre de sainte Barbe, décapitée par son père : au recto, la même sainte tenant la palme et supportant une petite tour, souvenir de celle dans laquelle elle fut enfermée. Arthur Forgeais, *Numismatiques des corporations parisiennes, métiers, d'après les Plombs historiés trouvés dans la Seine et recueillis par...* Paris, 1894.

peut paraître extraordinaire; Sainte Cécile, semble-t-il, eût mieux convenu ! Nous voyons par ce choix que l'industrie de la corde de boyau, à Paris, avait surtout pour débouché les diverses industries signalées dans l'art. I des Statuts et non l'art musical.

Sous Louis XIV, les boyaudiers étaient relégués en haut du faubourg Saint-Martin, près de Montfaucon, et n'avaient pas le droit de se déplacer. Ils étaient tous situés dans le même quartier et c'est dans cet endroit de la Butte Chaumont que dut s'installer la nouvelle boyauderie des paulmiers (1).

Les « puanteurs » qui s'échappaient des usines, inconvénient signalé dans les Statuts, prouvent que le travail ne devait pas s'y faire suivant les règles d'une hygiène bien comprise. D'ailleurs, à défaut d'un document officiel, nous pourrions nous en rapporter au bon fabuliste qui déclare que l'odeur d'une corde était l'indice d'une bonne fabrication.

> Commençons dans deux jours, et mangeons cependant
> La corde de cet arc : il faut que l'on l'ait faite
> De vrai boyau, l'odeur me le témoigne assez.
>
> La Fontaine, l. VIII, fable xxvii (*Le Loup et le Chasseur*).

Après l'édit de 1776, la profession de boyaudier devenant libre, cette industrie se répandit un peu partout. On en signale dans le quartier Mouffetard et à Vaugirard. Les réclamations ne tardèrent pas à se produire; aussi, en 1819, une ordonnance de police (2) vint restreindre le droit des boyaudiers en obligeant les fabricants à prendre les précautions et les mesures propres à diminuer les inconvénients signalés.

Vers le milieu du xix[e] siècle, les boyauderies étaient presque exclusivement cantonnées aux alentours de Vaugirard, où il en existe encore une. A cette époque il y avait 23 fabricants et 245 ouvriers (3). Actuellement, elles sont presque toutes situées dans la banlieue nord de Paris, à Aubervilliers.

(1) Cette boyauderie devait encore exister en 1717, car on la trouve sur la carte de la banlieue de Paris, publiée en 1717.

(2) Ordonnance concernant les boyaudiers et les fabricants de cordes à instruments Paris, 14 avril 1819.

(3) *Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales*, t. X, 1869, 423-424. (Les hommes gagnaient de 3 francs à 3 fr. 25 par jour, les femmes 2 fr. 50; leur conduite est réputée bonne, ajoute la note.)

Toutes les usines ne font pas la corde de boyaux ; on ne compte que trois industriels à Paris et un à Lyon qui se sont spécialisés dans cette fabrication. A la suite du vœu de l'Académie de Médecine, un pharmacien de Nancy n'a pas hésité à installer, sous les obus, une petite boyauderie. Un pharmacien parisien tente également d'installer une semblable industrie.

L'Allemagne était le grand centre de la production des cordes harmoniques. Il existait à Markneukirchen (Saxe) plus de 30 petites boyauderies et dans certaines villes des usines occupant chacune plusieurs centaines d'ouvriers. La corde allemande était très réputée. Le nombre des ouvriers employés à la fabrication de ces cordes dépassait plusieurs milliers.

En Angleterre, il y a également quelques boyauderies dont les produits sont très estimés, particulièrement les cordes à raquettes.

Les industriels français peuvent fournir des cordes ayant la même valeur que les cordes étrangères et nous espérons bien qu'ils n'hésiteront pas à s'organiser en vue de la conquête du marché mondial.

L'emploi de la corde de boyau dans les petites industries va diminuant, mais par contre, depuis une cinquantaine d'années, une utilisation toute spéciale de cette corde a créé un nouveau débouché à l'industrie boyaudière.

La corde chirurgicale, le « catgut » est couramment employé par tous les chirurgiens, et la consommation ira sans cesse en augmentant (1).

Bien que le mot *cat-gut*, d'origine anglaise, signifie « boyau de chat », c'est le boyau de mouton qui est exclusivement employé pour cette préparation. Il semble même que l'intestin du chat n'a jamais servi à faire une corde. En tout cas, nous n'avons pas trouvé d'indications permettant de faire une semblable hypothèse.

Le mot catgut est ancien et dans le Dictionnaire de J. A. Murray (2) nous voyons qu'il était déjà employé en 1599. Quelques auteurs, non mélomanes probablement, prétendent

(1) Dans la région de Carcassonne, un usage populaire attribue une grande vertu à la corde de boyau, attachée au cou ou au bras, contre les maux de dents. Pour avoir toute son activité cette corde doit être teinte en rouge !

(2) J. A. Murray, *A new english Dictionary*.

que ce nom lui a été donné par dérision, à cause de la ressemblance du bruit produit par une corde frottée avec un archet et le miaulement du chat (1).

L'idée de l'utilisation de la corde de boyau en chirurgie revient à A. Cooper, mais déjà au xe siècle, Rhazès, médecin arabe, s'en était servi pour la suture de l'intestin.

A la suite d'accidents répétés : hémorragies secondaires, suppurations lentes, etc., Cooper renonça au catgut. Il fut réhabilité par Lister et Lucas-Championnière qui songèrent à le désinfecter. A partir de ce moment, avec des fortunes diverses, le catgut s'implanta peu à peu dans les salles de chirurgie. Des procédés de stérilisation aussi nombreux que variés furent trouvés pour réaliser la préparation d'un catgut aseptique. Malgré les progrès faits dans cette voie, les chirurgiens constataient encore trop souvent des accidents. Une étude méthodique (2) de ces procédés nous a permis de démontrer que toutes les méthodes étaient appelées à un échec certain lorsque la corde avait été préparée dans de mauvaises conditions.

Cette étude de l'obtention d'un catgut stérile nous a conduit logiquement à nous occuper de la fabrication de la corde de boyau et à formuler certaines règles de préparation qui amèneront les boyaudiers à modifier leur technique. C'est presque une industrie spéciale qui doit se créer. Les boyaudiers trouveront, dans un article intentionnellement écrit pour eux, les raisons qui nous forcent à exiger l'observation de certaines précautions. Nous voulons croire qu'ils se rendront à nos arguments.

La fabrication de la corde chirurgicale doit être envisagée à un point de vue tout différent de celle de la corde harmonique. Les qualités de l'une ne peuvent convenir à l'autre. Au début, le chirurgien a pris la corde de boyau existant dans le commerce et l'a adaptée à ses besoins. Aujourd'hui que, grâce à ses recherches, il a créé un débouché important à cette corde, *il est en droit d'exiger des industriels qu'ils apportent certains soins indispensables à la préparation.*

(1) Marston, *What you will?* III, 1607. « The musition Hover with nimble sticks ore squeaking crowds (fiddles) Tickling the dryed gutts of a meswing cat. — R. Holme, *Armoury*, III, 357, 1688. Made of the Guts of Beasts as sheep, etc... though the generall name of it is Cats-guts.

(2) A. Goris, Préparation du catgut. Ces *Annales*, t. XXX, p. 5-33, 1916.

Les Allemands avaient créé une industrie spéciale du catgut. Nous croyons, pour beaucoup de raisons, qu'ils étaient loin de l'avoir réalisée telle que nous l'envisageons pour nos boyaudiers, qui pourraient dès maintenant prendre une très grande avance sur leurs concurrents.

Que nos industriels méditent ce qui est arrivé sous Louis XIV, lorsque les paulmiers ont créé une boyauderie spéciale pour leurs besoins sans cesse grandissants, et qu'ils se souviennent que l'histoire a souvent de ces recommencements, mais surtout qu'ils sachent bien, qu'à vouloir trop ignorer la science, on s'expose dans l'industrie à d'amères déceptions.

DOCUMENTS ANNEXES

I

INTÉRIEUR D'UNE BOYAUDERIE (*Planche ci-contre*).

FIG. 1. — Grand châssis, dont les montants sont percés de trous, pour recevoir les chevilles sur lesquelles on étend les cordes, pour les laisser sécher.

FIG. 2. — Ouvrière raclant les boyaux sur un lavoir ou dégraissoir représenté figure 7.

FIG. 3. — Ouvrière cousant des boyaux avec des petites filandres qui lui servent de fil. La figure 8 représente la façon dont sont coupés les boyaux avant d'en faire la couture.

FIG. 4. — Ouvrier qui fait tourner le rouet (fig. 9) pour tordre la corde.

FIG. 5. — Ouvrier qui lisse avec la prêle ou une corde de crin, les boyaux tendus sur le « talard dormant ».

FIG. 6. — « Talard » sur lequel on tend les cordes d'instruments de musique, pour les mettre à l'étuve.

II

STATUTS DES BOYAUDIERS, EN 22 ARTICLES (1).

ART. I. *Voir page* 692.

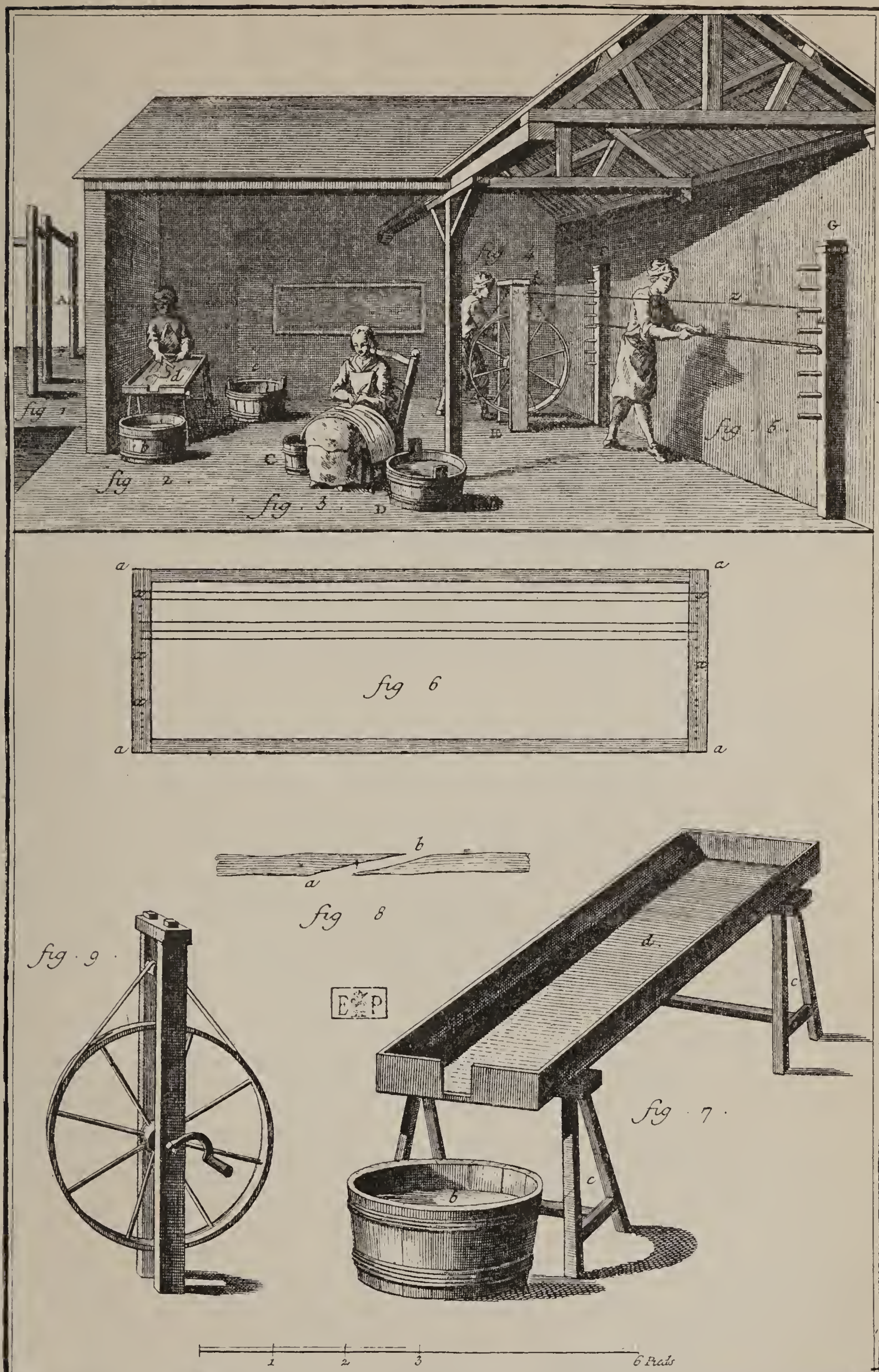
ART. II. Le doyen desdits maîtres veillera aux affaires de la communauté.

ART. III. Il rendra compte des deniers la veille de la fête Sainte-Barbe, patronne desdits maîtres.

ART. IV. Il y aura un juré élu chaque année.

ART. V. Fera visite 4 fois l'an auxquelles sera payé par chacun des dix maîtres dix sols à chaque visite seulement afin de le dédommager en quelque façon et du temps qu'il sera contraint d'y employer.

(1) N. B. — Nous avons résumé la plupart de ces articles. Les articles V, VI, VIII, XIII, XIV, XV sont copiés textuellement.



Intérieur d'une boyauderie à la fin du XVIII[e] siècle.
(Réduction à 1/2 d'une planche de l'*Encyclopédie ou Dict. des Sciences et des Arts.*)

ART. VI. Procédera en plus ledit juré à la recherche de ceux qui sans titre valable s'ingèrent en la manufacture des cordes à boyau sous prétexte qu'ils demeurent dans des hôtels, maisons garnies, collèges ou autres lieux écartés, et enfin réprimer plus aisément les entreprises se fera assister de plusieurs agents ou commissaires audit Chatelet suivant la nécessité des rencontres.

ART. VII. Ledit juré fera rapport dans vingt-quatre heures par devant notre procureur au Chatelet.

ART. VIII. Pour d'autant plus et exécuter ledit juré à se comporter dignement à la conduite des affaires de ladite communauté dans l'exécution desdits statuts et à préserver les intérêts publics, voulons qu'il soit exempt pendant l'année de la jurande et faire curer et nettoyer les rues de notre ville.

ART. IX. Les aspirants à la maitrise feront une expérience.

ART. X. Les fils de maîtres seront obligés de faire chefs-d'œuvre lorsque sera ordonné par la communauté. Ils payeront 16 livres au métier, 6 livres à la confrérie Sainte-Barbe.

ART. XI. Les aspirants payeront 6 livres aux jurés, 30 livres à la confrérie, 60 livres au métier.

ART. XII. Feront apprentissage de trois ans.

ART. XIII. Et d'autant qu'il y a eu jusqu'à présent diverses contestations pour raison du lieu ou lesdits maîtres doivent faire l'exercice de leur métier *à cause des puanteurs* et des matières dont ils se servent à la manufacture desdites cordes à boyau, *vouloir qu'ils demeurent aux lieux les plus commodes* et nécessaires pour la manufacture de leurs marchandises auxquelles ils travailleront.

ART. XIV. Faisons défense à toutes personnes de quelque art ou métier qu'elles soient d'entreprendre, faire vendre ou distribuer publiquement ou en particulier en notre dite ville, faubourgs et banlieue aucune sorte de cordes à boyau, s'ils n'ont apprentifié, fait chef-d'œuvre et *vécus Maîtres*, prèté le serment par devant notre dit Procureur au dit Chatelet à Paris, les droits en dessus déclarés, même que lesdites cordes ne soient bien et duement faittes avec les façons apprestements et dispositions ordinaires dudit mestier à peine de 30 livres contre les défaillants applicables ainsi qu'il sera ordonné par notre Procureur et lesdites cordes estre brulées devant la porte de l'ouvrier ou du vendeur d'icelles sans qu'il y ait aucune heure pour raison dudit art.

ART. XV. Défendons *pareillement aux jurés et maîtres raquettiers de faire aucune visite* et saisie sur lesdits maîtres faiseurs de toutes sortes de cordes à boyau, mais se mesleront seulement de leur art conformément à leurs statuts ainsi qu'il a été contradictoirement jugé par sentence de notre Prévot de Paris confirmée par Arrest de notre dit Parlement du 25 janvier et 29 avril 1632 à peine de 300 livres d'amende.

ART. XVI. Les serviteurs et compagnons ne travailleront que chez les maîtres de la communauté.

ART. XVII. Ils ne tiendront aucun apprenti.

ART. XVIII. Les compagnons payeront un droit de 10 sols pour travailler.

ART. XIX. Les veuves continueront leur métier pendant leur veuvage.

ART. XX. Les affaires seront traitées par le doyen en assemblée de tous les maîtres.

ART. XXI. Les maîtres payeront 18 sols chaque année à la confrérie.

ART. XXII. Les papiers seront enfermés dans un coffre à deux clefs, remises au doyen et au juré en charge.

PRÉPARATION DE LA CORDE A CATGUTS

par A. GORIS.

(Avec les planches X et XI.)

(Travail du Laboratoire du professeur Borrel.)

Dans un précédent travail (1), nous avons montré combien il est difficile d'obtenir la stérilisation parfaite et absolue d'une corde à catguts *préalablement infectée.* Nous ajoutions que l'on *doit considérer comme infectée* et, par conséquent, comme peu facile à stériliser, toute corde préparée avec des boyaux ayant subi, antérieurement au raclage, la *macération habituelle.*

A la suite de notre publication, deux courants d'opinion se sont formés parmi nos confrères.

Les uns ne voient la solution du problème de la stérilisation des catguts que dans l'emploi de procédés plus énergiques, procédés ayant fait leurs preuves sur des cordes infectées artificiellement ou préparées dans les plus mauvaises conditions d'hygiène et de propreté.

Les méthodes physiques (tyndallisation, chauffage à 120°, à 134° en liquides ou en vapeurs anhydres) étant toutes insuffisantes, c'est dans les méthodes antiseptiques, seules ou associées aux méthodes physiques, qu'ils placent toute leur confiance. On conclurait à une stérilisation parfaite lorsque les bouillons ensemencés avec ces catguts resteraient stériles (2).

Les autres, partageant en cela mon opinion, exigent une préparation rationnelle des cordes, basée sur les notions élémentaires de propreté bactériologique. Pour de tels produits, toutes les méthodes de stérilisation actuellement connues sont suffisantes.

(1) A. Goris, Préparation du catgut. Ces *Annales*, t. XXX, p. 5-33, 1916.
(2) Des lavages préalables à l'eau stérile enlèvent l'antiseptique lorsque ce dernier n'est pas combiné avec la substance albuminoïde de la corde.

Cette manière de voir semble bien près de réunir tous les suffrages, puisque, si des confrères recherchent encore des procédés de stérilisation de plus en plus énergiques, c'est surtout en vue de les appliquer à des cordes faites avec tous les soins désirables. Toutefois, il n'est peut-être pas inutile de donner les raisons qui militent en faveur de notre point de vue.

Certes, l'emploi des antiseptiques paraît, de prime abord, la solution la plus indiquée, en tous cas, certainement la plus simple.

Mais y a-t-il avantage à fixer ces antiseptiques sur la corde? En dehors des catguts traités intentionnellement par une substance chimique, en vue de retarder leur résorption, ne serait-il pas préférable d'éviter toute présence de composés minéraux ou organiques? Ces catguts ne semblent-ils pas donner plus souvent lieu à des éliminations que ceux simplement traités par les liquides neutres? Nous reconnaissons que, sur ce point, les chirurgiens seuls ont le droit d'avoir un avis autorisé.

D'autre part, l'argument basé sur la stérilité du bouillon ensemencé avec les catguts ne nous paraît pas suffisant, surtout *pour des cordes d'origine douteuse*. Cette méthode d'essai en bouillon n'a qu'une « valeur indicative ».

Dans une *série d'essais*, elle nous permet bien d'éliminer ceux qui, franchement, sont mauvais; elle ne nous donne pas le droit d'affirmer, mais seulement de *supposer*, que les autres sont parfaits.

Obtenir 40, 50 ou même 100 tubes de bouillon stériles dans quelques essais, ne nous autorise nullement à conclure à l'efficacité absolue d'une méthode de stérilisation d'un catgut infecté. Il faut répéter ces examens sur des milliers d'opérations, et l'on peut dire que c'est surtout la continuité des essais négatifs qui établit la valeur d'une méthode de stérilisation. C'est pourquoi le contrôle devrait être pratiqué par tous les fabricants de catguts pour chaque traitement. Nous avons observé plusieurs fois qu'une méthode peut donner aux essais de laboratoire d'excellents résultats, et se révéler insuffisante dans la pratique industrielle.

C'est que les essais se font avec un nombre limité de cordes, souvent d'une même origine, dont nous connaissons sensible-

ment la nature et le degré d'infection, puisque nous les avons nous-même infectées ou en avons déterminé la flore microbienne.

Dans l'application industrielle du procédé de laboratoire, les conditions changent totalement (1). L'industriel opère alors sur des cordes d'origine inconnue, de provenance très diverse, surtout lorsqu'il s'agit de boyaux secs ; elles peuvent être contaminées par des microbes sur lesquels les essais n'ont pas été faits ; ou bien les spores qui les infectent peuvent se trouver dans un état particulier. Il en résulte que la méthode employée avec succès, au laboratoire, pour des cordes déterminées, ne conviendra pas également à toutes les cordes mises à la disposition de l'industriel. En réalité, c'est un nouvel essai que l'on fait à chaque traitement. Aussi le contrôle de chacun de ceux-ci s'impose lorsqu'on met en œuvre des cordes préparées *en dehors de toute surveillance intelligente*. Conclure au résultat d'une manipulation par analogie avec les résultats d'essais antérieurs pratiqués sur d'autres matières premières, n'est guère scientifique.

Enfin la méthode d'essai en bouillon n'est pas suffisante pour des cordes remplies de spores comme le sont les cordes d'origine inconnue. Telle spore, affaiblie par les antiseptiques ou la chaleur, qui ne sera pas régénérée, ou le sera très lentement (2) en bouillon, peut très bien trouver des conditions meilleures dans l'organisme. C'est dire qu'il faudrait confirmer les résultats d'ensemencements en bouillon par une inoculation à l'animal. Faire cet essai pour tous les traitements et même à la rigueur sur tous les catguts, puisque nous ne connaissons nullement notre matière première, est pratiquement irréalisable. En fait, c'est le chirurgien qui fait cette expérience, et l'inconvénient de cette méthode, souligné par l'accident récemment signalé par MM. Nicolle et Bouquet, est suffisamment démonstratif (3).

A notre avis, il vaut mieux assurer la stérilité d'un catgut

(1) Il faut, en outre, admettre que les conditions réalisées pour les essais sur une quantité limitée de matière première se retrouvent lorsque l'industriel traitera une quantité plus grande de produits.

(2) Nous avons obtenu des cultures trois semaines après ensemencement.

(3) Nicolle et H. Bouquet, Sur un cas de tétanos imputable à l'emploi du catgut. *Bulletin de l'Académie de Médecine,* t. LXXV, p. 734 (20 juin 1916).

en dehors de toute fixation d'antiseptique. Cela ne peut se faire *qu'avec des cordes bien préparées.* Il est d'ailleurs si facile de faire des cordes, en se plaçant dans les meilleures conditions d'hygiène et de propreté, que cette fabrication ne dépasse ni la bonne volonté ni le savoir-faire de nos industriels boyaudiers.

Jusqu'à présent, ces derniers préparaient des « cordes de boyau » sans autre spécification. Suivant la qualité de l'acheteur (luthier ou pharmacien), cette corde devenait corde harmonique ou corde chirurgicale et il faut bien avouer que les échantillons les moins bons étaient souvent destinés aux pharmaciens. Il n'y avait là nullement une faute de la part des industriels qui étaient mal informés. Faire comprendre aux boyaudiers qu'il fallait faire la corde à catguts en vue des *besoins* de la chirurgie, la corde harmonique pour satisfaire aux *desiderata* des musiciens, en un mot *deux fabrications spéciales*, n'a guère été bien long ni bien difficile.

Nous devons même dire qu'il a suffi de leur montrer l'intérêt des soins à apporter à cette industrie toute particulière, pour que certains d'entre eux prennent les dispositions nécessaires pour une fabrication rationnelle et en partie irréprochable.

Peut-être y aurait-il avantage à ce que les pharmaciens fortement groupés assurassent cette fabrication? Sous Louis XIV, la corporation des paulmiers n'avait pas hésité à demander au roi l'autorisation de créer une boyauderie pour la production de cordes répondant aux besoins de leur industrie. Pourquoi nos industriels d'aujourd'hui ne suivraient-ils pas cet exemple? Nos fabricants parlent souvent de s'organiser pour la lutte commerciale de demain et ne peuvent arriver à se grouper pour défendre leurs intérêts généraux bien compris, tout en respectant les droits de chacun d'entre eux, conciliation qui ne me paraît cependant pas impossible. Après tout, nous pouvons nous tromper, et peut-être est-il plus facile de se faire concurrence par des procédés le plus souvent puérils! Nous avons peine à croire que ce soit là le but suprême d'une bonne organisation commerciale !

Quoi qu'il en soit, les boyaudiers semblent s'être montrés plus entreprenants et plus soucieux de leurs intérêts, en créant une industrie spéciale de la corde chirurgicale. Au point de vue

général, nous ne pouvons que nous en réjouir. Que les pharmaciens commanditent un boyaudier pour leur fabriquer les cordes nécessaires à leur industrie, ou que des boyaudiers installent à leurs frais cette fabrication, le résultat est acquis ; le public et les chirurgiens y trouveront le plus grand profit.

Ce que nous devons demander, c'est que cette fabrication se fasse sous la conduite d'industriels pénétrés de l'importance de ce nouveau métier. Les boyaudiers ne sont pas plus réfractaires à l'idée de progrès que les pharmaciens. Des raisons impérieuses nous amènent à exiger d'eux l'observation de certaines précautions, de certaines règles de préparation ; encore faut-il qu'ils sachent exactement la raison de ces exigences et la nature de ces précautions.

C'est donc pour eux que nous écrivons ces lignes. Elles résument toutes les causeries et démonstrations que nous avons été amené à leur faire à l'Institut Pasteur, depuis près de deux ans. Elles leur serviront, je pense, de guide précieux pour une fabrication rationnelle de la corde chirurgicale. Nous sommes convaincu qu'ils en tireront, en outre, un très grand bénéfice pour la fabrication de la corde harmonique.

*
* *

Nous établirons deux parties dans ce qui suit. La première sera consacrée à l'étude de la matière première — l'intestin grêle du mouton — et des conditions nécessaires pour éviter son altération. Dans la seconde, nous examinerons successivement les diverses manipulations que l'on est amené à faire subir à ce boyau. Dans cette partie, on trouvera forcément des lacunes, le plus souvent d'ailleurs intentionnelles. Il importe, en effet, de ne pas divulguer certaines façons de faire qui constituent une avance pour quelques industriels. Nous nous bornerons donc, dans ce cas, à des généralités larges, tout en faisant remarquer que ces manipulations secondaires ne compromettent pas le principe général d'une bonne fabrication de cordes à catguts.

I. — L'Intestin grêle du Mouton.

La corde de boyau se prépare exclusivement avec l'intestin grêle du mouton. Celui-ci atteint 25 à 30 mètres de long.

Les extrémités antérieure et postérieure, sur une longueur de quelques mètres, sont généralement retirées et destinées à un usage alimentaire. Ces parties sont, en effet, moins résistantes et d'un plus grand diamètre que la partie moyenne de l'intestin. La corde est donc surtout préparée avec la portion jéjuno-iléale de l'intestin grêle.

L'âge, l'origine géographique, la nourriture, la race du mouton influent sur la qualité de la matière première; mais ce sont là des données trop connues pour y insister.

L'intestin grêle comprend quatre couches ou tuniques qui se superposent du dehors en dedans de la façon suivante :

1° Une tunique séreuse,

2° Une tunique musculeuse,

3° Une tunique celluleuse,

4° Une tunique muqueuse.

La *tunique séreuse*, très mince, est un repli péritonéal.

La *tunique musculeuse* est composée de deux plans de fibres, l'un superficiel, l'autre profond. Le plan superficiel, relativement mince, comprend les fibres longitudinales, c'est-à-dire disposées parallèlement à l'axe du canal. Le plan profond, plus épais, est formé de fibres circulaires disposées perpendiculairement au plan des fibres précédentes. Ces deux sortes de fibres forment une couche continue dans toute la longueur et aussi sur toute la circonférence de l'intestin. Si le plan des fibres longitudinales conserve une épaisseur à peu près uniforme, il n'en est pas de même des fibres circulaires dont l'épaisseur est fort variable.

La *tunique celluleuse*, encore appelée *sous-muqueuse*, est essentiellement constituée par des faisceaux du tissu conjonctif qui s'entre-croisent dans tous les sens et auxquels viennent se joindre un certain nombre de fibres élastiques. Elle renferme de nombreux vaisseaux (veines et artères) et les nerfs qui se rendent à la muqueuse. Son adhérence à la tunique muqueuse

est assez intime; par contre, elle se sépare assez facilement de la couche musculeuse sous-jacente.

La *tunique muqueuse* constitue la partie la plus essentielle de l'intestin, puisque c'est dans cette couche que se trouvent les glandes digestives. Pour ce qui nous occupe, elle ne présente qu'un intérêt très secondaire.

Lequel de ces tissus sert à la fabrication de la corde de boyau? Pour s'en rendre compte, il est indispensable de suivre les diverses manipulations depuis l'abattoir.

L'animal tué, puis ouvert, l'ouvrier boyaudier détache l'intestin grêle du pylore et du cæcum, et rompt, en ces endroits, ses attaches avec le mésentère. Prenant alors les deux extrémités dans la main droite, il tire et enlève le boyau de la cavité abdominale, la main gauche guidant le travail et facilitant la rupture des adhérences. Dans cet arrachement la tunique musculeuse reste fixée au mésentère. Si la rupture se fait en A, le boyau est pour ainsi dire extirpé de la gaine musculaire (fig. 1, Pl. X); mais, si cette rupture se fait en B et C, une partie de cette musculeuse restera adhérente au mésentère et l'autre accolée à l'intestin. Les deux modes de rupture peuvent, d'ailleurs, se trouver sur le même boyau à des moments différents de la manipulation; les deux points de rupture en B et C peuvent au bout de quelques mètres d'arrachement se réunir en A, ou *vice versa*. Il y aura donc des boyaux qui emporteront avec eux une quantité plus ou moins grande de débris de cette couche musculaire. Enfin, dans cet arrachement brutal, il peut se produire un clivage dans les fibres longitudinales ou circulaires dont une partie reste fixée à l'intestin. L'intestin est ensuite pressé entre les doigts pour en faire sortir le résidu alimentaire. C'est dans cet état qu'il est alors envoyé à l'atelier de boyauderie.

La figure 3 de la planche XI nous montre le boyau extirpé de la gaine musculaire qui reste attachée au mésentère. On voit également un bout de filandre détaché de l'intestin (fig. 4, Pl. XI).

Ainsi donc, le boyau qui part des abattoirs ne renferme qu'une faible partie de la couche musculeuse, celle qui, au hasard des manipulations, a bien voulu y rester. A la boyauderie, on commence par enlever les deux extrémités antérieure et postérienre sur une longueur de $2^{m}50$ à $3^{m}50$, puis

on retire les parties de la couche musculeuse qui ont pu rester adhérentes à l'intestin. Ces filaments ainsi enlevés constituent ce qu'en terme de métier on appelle la « *filandre* » (1). D'après ce que nous venons de dire, cette filandre peut ne pas exister sur toute la longueur du boyau; elle peut également ne pas avoir une épaisseur régulière. Le boyau est ensuite fendu longitudinalement suivant les deux extrémités d'un diamètre. Les ouvrières, au moyen de dés en cuivre ouverts, constituant une sorte d'ongle artificiel, raclent ces demi-boyaux. Ce premier raclage détache la muqueuse. Les raclages suivants ont pour but d'enlever tous les débris de fibres longitudinales et surtout circulaires qui peuvent encore se trouver sur les lanières, ainsi que toutes les traces de tissu muqueux. Les bains alcalins facilitent, d'ailleurs, ces opérations de nettoyage. La lanière obtenue, qui va servir à la fabrication de la corde, est *uniquement constituée par la couche celluleuse renfermant tous les troncs vasculaires*. Contrairement à ce que l'on croyait et ce que nous pensions également, avant d'avoir fait des coupes histologiques, ce n'est pas la musculeuse qui sert à la fabrication du catgut, mais la celluleuse, et dans ce tissu les vaisseaux semblent jouer un très grand rôle. Le catgut est donc *exclusivement constitué par le tissu celluleux conjonctif, soutenu par une armature de tissu résistant comprenant les parois vasculaires et la couche musculaire sous-muqueuse* (*muscularis mucosæ* (2).

La corde sera d'autant plus homogène, transparente et résistante qu'elle sera davantage privée de la filandre et des débris de fibres circulaires et du tissu muqueux. Les industriels qui ne prennent pas le soin d'enlever soigneusement tous les restes de fibres longitudinales ou circulaires,

(1) Ces filandres sont employées à la place de fil pour coudre bout à bout les chutes de lanières employées dans la fabrication des cordes de transmission. Tordues, elles donnent des cordes destinées à des usages spéciaux (fouets, cravaches, etc.). La résistance de ces cordes est beaucoup plus faible que celle de la vraie corde de boyau. Leur diamètre est irrégulier; lorsqu'on les fait glisser entre le pouce et l'index, on perçoit sur toute leur longueur une série de nœuds. Cela provient de ce que le plan de fibres circulaires n'a pas partout la même épaisseur, et surtout a été détaché très irrégulièrement, à tel point qu'il fait totalement défaut par place, où l'on ne trouve que les fibres longitudinales (Pl. XI, fig. 4).

(2) Les préservatifs en baudruche préparés avec le cæcum du mouton, ont la même origine histologique, mais dans ce cas la *muscularis mucosæ* est beaucoup plus développée.

soit à la main, soit par le raclage, ne peuvent obtenir qu'une corde de moindre qualité.

La planche X, fig. 1, représentant une coupe d'intestin colorée par la méthode Van Gieson montre tous ces tissus dans leur position et avec leur importance respective. La couche muqueuse occupe plus de la moitié de l'épaisseur de la paroi intestinale, les couches celluleuses et musculeuses se partagent presque également le reste de cette paroi. La figure 1, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, Pl. XI représente les diverses phases du catgut avant la torsion des lanière et la figure 2, Pl. XI, une corde nouvellement tordue.

Une coupe colorée par la méthode Moeller pour la coloration des spores laisserait voir quelques microbes dans la partie centrale où se trouve le résidu alimentaire, mais ni la couche musculeuse ni la couche celluleuse ne contiennent de micro-organismes.

Les cellules des glandes digestives sont très visibles; par contre, il est une catégorie de substances sécrétées par ces cellules, que le microscope ne permet pas de déceler : ce sont les ferments solubles et, en particulier, les ferments digestifs.

Microbes et ferments solubles sont les deux plus grands ennemis des boyaudiers, leur causant plus d'ennuis que toutes les prescriptions hygiéniques des inspecteurs des établissements classés. Comme toujours, ce sont les ennemis qui nous causent le plus de mal que nous connaissons le moins. Apprenons donc à les connaître, à juger leurs méfaits et, de ce fait, à limiter leurs dégâts.

Plongeons une anse de platine dans la lumière d'un intestin grêle et frottons légèrement sur les parois intérieures, c'est-à-dire sur la muqueuse. Étalons ce prélèvement, à peine visible à l'œil nu, à la surface d'un tube de gélose peptonée. Répétons ainsi cette opération plusieurs fois pour ensemencer quatre tubes de gélose. Renouvelons ces prélèvements; mais, cette fois, ensemençons quatre tubes de gélatine en pratiquant une piqûre de quelquescentimètres à l'intérieur de cette substance.

Recommençons de nouveau, et portons nos prélèvements dans des tubes de gélose Veillon, préalablement fondue et convenablement refroidie. Tubes de gélose peptonée, de gélatine, de gélose Veillon, sont partagés en deux séries. Les tubes de

gélose peptonée et de gélose Veillon sont mis à l'étuve à 37°; les tubes de gélatine à l'étuve à 25°. La seconde série est placée dans une glacière à une température moyenne de 4° à 5°.

Après vingt-quatre heures on examine les cultures.

Les tubes de gélose peptonée sont couverts de colonies blanchâtres confluentes dans la partie inférieure du tube, parfois isolées dans la partie supérieure. L'aspect extérieur des colonies nous laisse supposer que nous avons au moins quatre ou cinq espèces différentes.

Dans les tubes de gélatine, celle-ci est liquéfiée à la partie supérieure. Quant aux tubes de gélose Veillon, ils sont tout bouleversés, comme s'il s'était produit une explosion à leur intérieur. Les anaérobies s'y sont développés, donnant lieu à production de bulles de gaz dont la pression a été assez forte pour soulever la gélose sur une hauteur de 5 à 6 centimètres.

Prenons les tubes mis en glacière et nous constaterons qu'à leur surface ou à leur intérieur, aucun micro-organisme ne s'est développé. On remet vingt-quatre heures à l'étuve et à la glacière. Le phénomène va aller s'exagérant dans la première série de tubes; l'odeur des cultures devient infecte et rappelle l'odeur des bacs de macération des boyaudiers. Les tubes conservés au froid restent dans le même état ou montrent quelques colonies isolées à la surface de la gélatine; les microbes commencent à se développer le long de la piqûre de gélatine sans trace de liquéfaction; les tubes de gélose Veillon restent intacts. Il faudrait des jours ou des semaines avant que nous obtenions un résultat analogue à celui constaté dans les tubes mis vingt-quatre heures à l'étuve.

Évidemment, dans la pratique, on ne se trouve jamais dans des conditions, ni aussi défectueuses, ni aussi avantageuses, et c'est intentionnellement, afin de montrer les résultats extrêmes, que nous avons fait ces deux séries d'expériences. Suivant que dans leurs manipulations les boyaudiers opèrent à une température plus éloignée de 0°, ils peuvent se rendre compte du degré d'infection de leur matière première.

Nous allons, d'ailleurs, refaire une expérience semblable avec l'intestin. Nous plaçons un fragment de boyau dans l'eau et l'abandonnons à l'étuve à 37°. Une autre partie est mise à la glacière, sans addition d'eau.

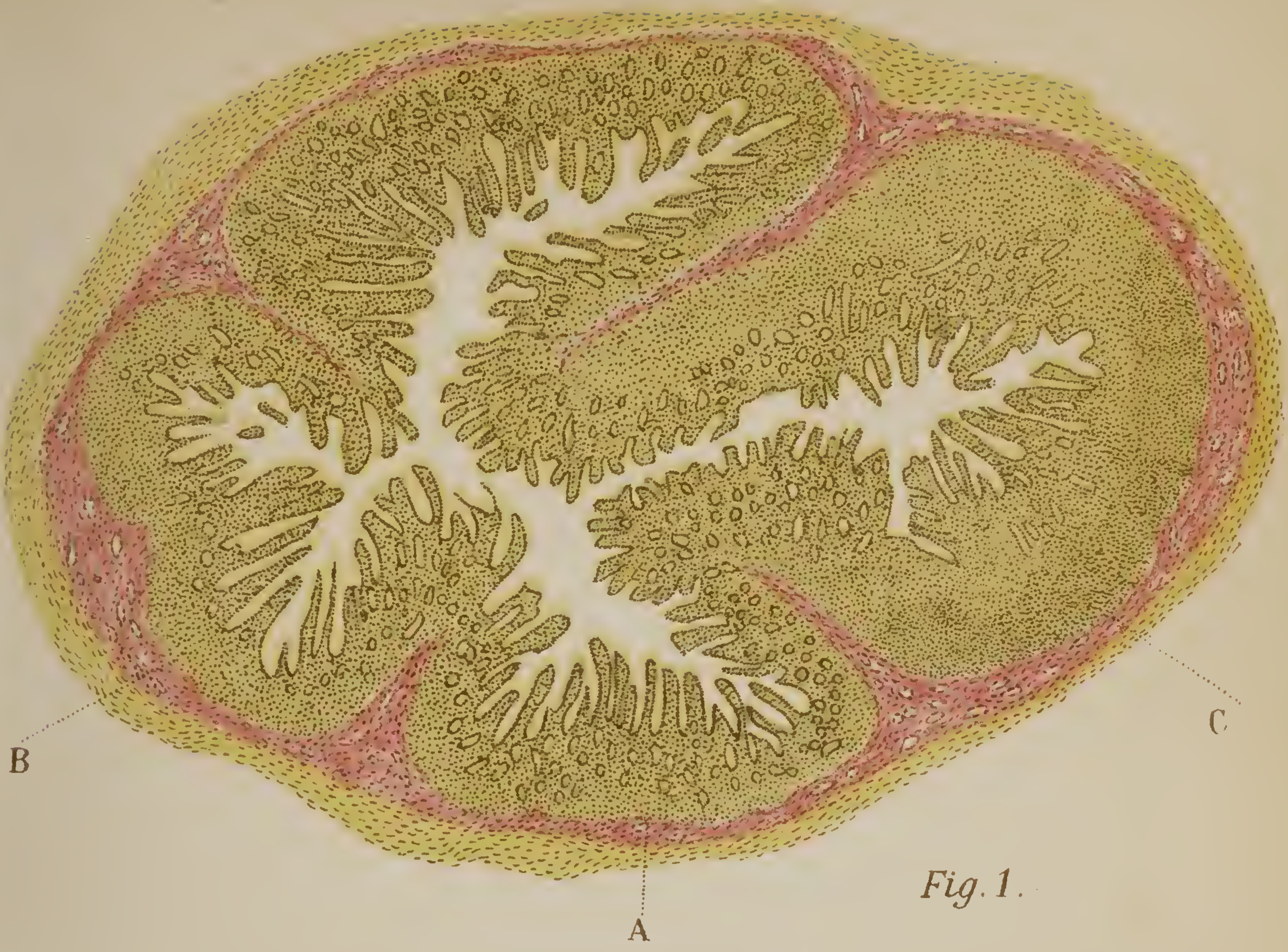


Fig. 1.

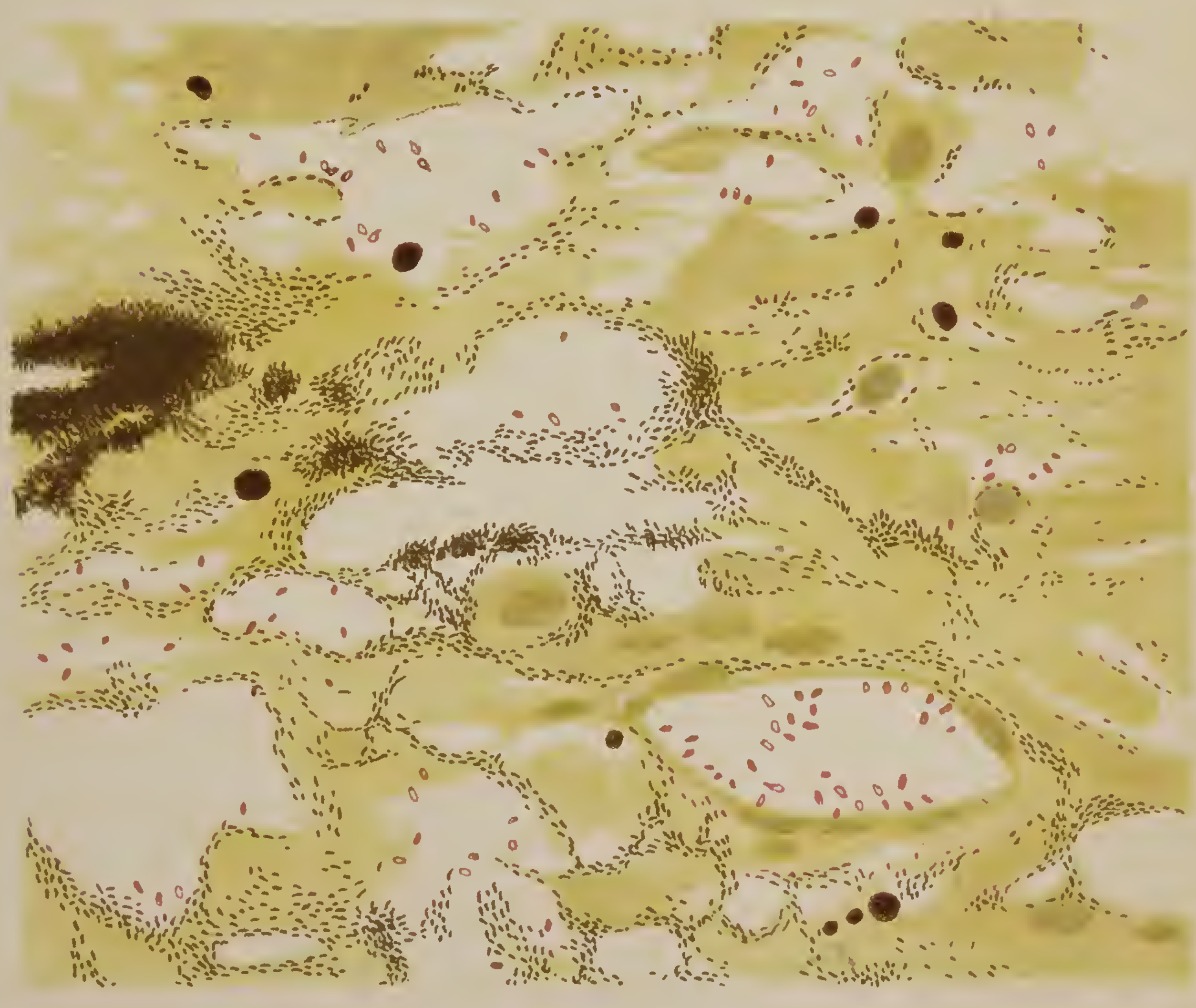


Fig. 2.

Ch. Constantin del. et lith

Imp. L. Lafontaine.

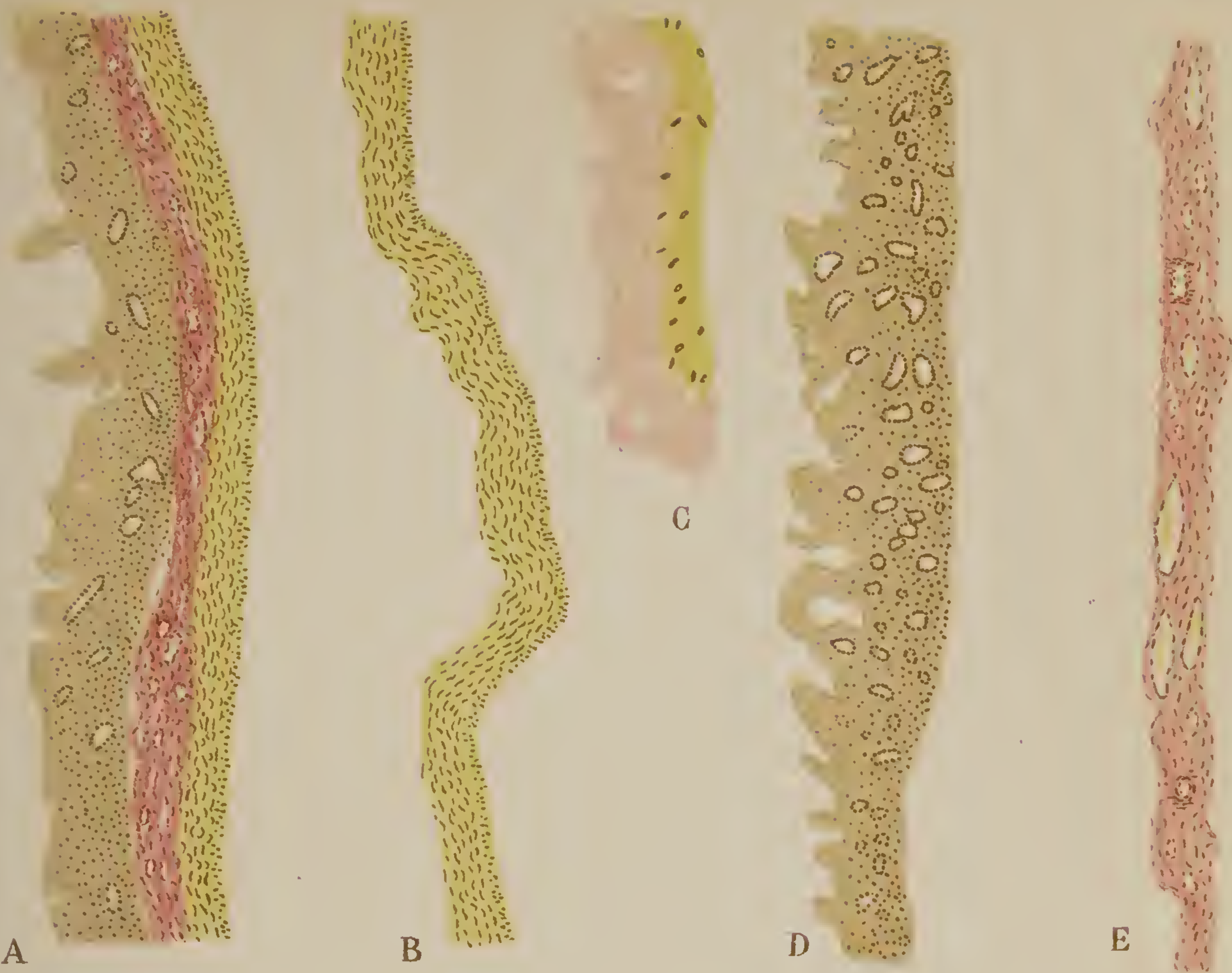


Fig. 1.

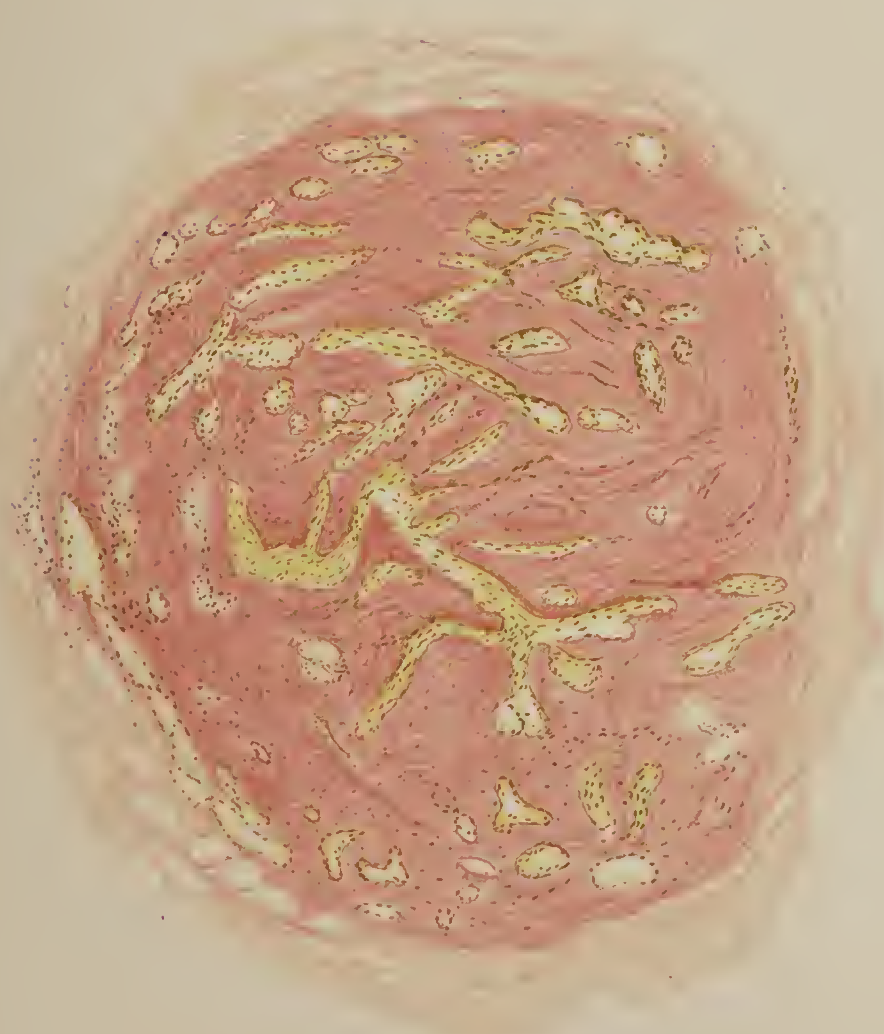


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Ch Constantin del et lith

Imp. L. Lafontaine.

On retire le premier au bout de vingt-quatre heures et le second au bout de quarante-huit heures. On traite les deux échantillons par les méthodes habituelles de l'histologie, et on pratique des coupes transversales.

Après coloration convenable, on peut constater que l'intestin conservé à la glacière possède une structure en tous points identique à celle de l'intestin frais, et que le nombre de microbes n'y est pas très élevé. Par contre, l'autre échantillon est rempli de micro-organismes qui se trouvent situés principalement dans les tissus muqueux et celluleux; il y en a aussi à l'intérieur des fibres longitudinales et circulaires. Ces bactéries sont bien à l'intérieur du tissu et non à sa surface, car nous avons pris soin de faire des coupes au milieu même de l'échantillon (Pl. X, fig. 2).

En examinant d'un peu plus près ces micro-organismes, on constate que certains paraissent mal colorés et présentent à leur intérieur un espace plus clair. Ce sont les *spores*, organes de résistance qui permettent à l'espèce de persister et de se propager dans le temps.

Par une coloration à la méthode Moeller on les voit à l'intérieur des tissus sous forme de petits grains ronds, colorés en rouge intense. Sans cette coloration, nous ne pourrions soupçonner la quantité de ces spores.

On comprend maintenant pourquoi les traitements à l'eau oxygénée des boyaudiers ne peuvent rien contre ces spores.

De même toutes les manipulations des pharmaciens sont le plus souvent insuffisantes. Lorsqu'on arrive à les détruire, le tissu est lui-même bien altéré.

Le meilleur moyen de faciliter le travail du pharmacien consiste donc à empêcher cette pullulation de microbes à l'intérieur des tissus et leur production de spores. Le *froid seul* permet d'arriver à un résultat très satisfaisant. Une bonne chambre froide donne la possibilité de garder vingt-quatre heures des intestins sans trace d'altération.

En opérant ainsi, le boyaudier assure la qualité primordiale d'un catgut : la *stérilité*. Au contraire, la macération, *même peu prolongée*, amène l'infection des tissus et la corde obtenue avec cette matière première est, à mon avis, à rejeter.

Avec le bienveillant concours de M. B....., que nous

sommes heureux de remercier pour l'intérêt qu'il a mis à réaliser pratiquement la fabrication du catgut, nous avons fait une série d'essais, auxquels nous attachons une très grande valeur démonstrative, et qui ont définitivement convaincu cet industriel.

La maison X..... a installé une fabrication spéciale de cordes à catguts; les boyaux recueillis à l'abattoir le matin sont traités le jour même.

Quelquefois, par suite d'abattage nombreux, tous les boyaux ne pouvaient être raclés dans l'après-midi. Consulté sur la possibilité de conserver ces intestins jusqu'au lendemain dans une solution d'eau chlorée, nous avons déconseillé cette manière de faire et proposé à M. B..... de vérifier expérimentalement cette opinion. Des boyaux ayant séjourné une nuit dans de l'eau chlorée faible furent traités séparément. Les cordes obtenues furent mêlées à d'autres cordes préparées avec les boyaux n'ayant subi aucune fermentation.

Grand fut l'étonnement de M. B..... lorsque je lui fis voir que, sur les vingt cordes remises par lui (1), sept avaient donné des cultures. Ce nombre correspondait sensiblement aux cordes faites avec les lanières des boyaux mis à macérer dans la solution antiseptique.

Voici un autre exemple de l'influence néfaste de la macération. La maison X... livre les cordes de mai à octobre — donc en plein été — qui n'ont donné lieu à aucun reproche. Brusquement, en novembre, une, puis deux, trois livraisons sont défectueuses. On prévient l'usine; une enquête est faite. On constate que, pendant l'absence motivée par une maladie de la contremaîtresse qui dirigeait l'atelier de fabrication, une surveillance moins efficace avait été exercée, et que les ouvrières, renonçant difficilement à leurs anciennes habitudes, avaient clandestinement laissé macérer des boyaux. La défectuosité des livraisons disparaît dès que la surveillante énergique reprend son service. Ainsi donc le laboratoire, ne sachant pas ce qui s'était passé dans l'atelier, a pu fournir une indication qui a été reconnue exacte après enquête. Aucune expérience de

(1) Ces cordes avaient été stérilisées par tyndallisation dans l'alcool eucalyptolé.

laboratoire ne pourrait fournir de plus bel exemple de démonstration.

Il nous faut maintenant montrer l'influence néfaste des microbes et surtout des ferments solubles sur la solidité et l'aspect de la corde.

Nous pouvons déjà constater sur les coupes d'intestins conservés dans l'eau à l'étuve, que les tissus sont en partie dissociés. Il semble s'être produit, ici, le même phénomène que dans la gélose Veillon. Les fibres se sont séparées sous la production des bulles de gaz ayant pris naissance à l'intérieur des tissus. On conçoit que la résistance d'une semblable matière première soit fortement diminuée.

Voyons maintenant le rôle des ferments solubles. Raclons un intestin grêle et plaçons les lanières dans trois bocaux avec de l'eau ordinaire. Dans l'un, ajoutons une trace d'acide chlorhydrique, dans l'autre, une quantité comparable de soude et laissons le troisième dans l'eau pure Ajoutons dans tous — et cela pour nous placer dans les conditions analogues à celles des ateliers de boyaudiers — une très petite quantité du raclage de la muqueuse. Mettons ces bocaux à l'étuve à 37° et, après avoir préparé trois autres bocaux semblables, portons ces derniers à la glacière. Au bout de vingt-quatre heures, comparons la solidité de nos tissus : nous constaterons le peu de résistance des lanières mises à l'étuve, même de celles conservées dans l'eau pure; par contre, les lanières placées à la glacière ont gardé toute leur solidité.

Les ferments digestifs attaquent la matière albuminoïde, la digèrent en partie et la transforment en produits solubles ; les fibres, le tissu conjonctif se sont peu à peu disjoints. Il y a, par conséquent, une diminution dans la résistance des diverses couches constituant l'intestin. Dans les boyaux infectés, cette action destructive des ferments digestifs est encore augmentée de l'action des ferments solubles que les microbes produisent, et dont on a pu constater le résultat dans les cultures en gélatine, qui se sont liquéfiées sous l'action des microbes de la flore intestinale.

Les cordes faites avec ces matières se ressentiront forcément des modifications chimiques qui se sont produites dans les tissus.

Enfin, il est un point sur lequel nous voulons retenir l'attention des boyaudiers, parce qu'il présente un grand intérêt pour eux, surtout en ce qui concerne la corde harmonique.

On sait que la corde de boyau peut avoir une coloration allant depuis le rose faible jusqu'au brun noirâtre.

Cette coloration est encore un effet de ferments solubles dont l'action diffère de celle des ferments digestifs. Ceux-ci, avons-nous dit, attaquent les matières albuminoïdes et les transforment en produits solubles, peptones et acides aminés. La chimie de la dégradation des albumines sous l'action des ferments est encore bien loin d'être définitive. Nous ne possédons que quelques corps de ce catabolisme, mais parmi ceux-ci il en est un que nous connaissons suffisamment : c'est la tyrosine. Cet acide aminé se produit sous l'action de la pancréatine activée par le suc intestinal. Toutes ces conditions sont remplies au cours des manipulations faites sans soin dans les boyauderies.

Cette tyrosine est un produit blanc; mais dissoute dans l'eau, elle se transforme, sous l'action d'un ferment soluble, la *tyrosinase*, en un produit noir. Nous pouvons suivre ces transformations sur une solution de tyrosine dont la surface devient jaune paille, rose, puis rose grenadine et enfin noire.

La succession de ces colorations est d'autant plus rapide que l'on place le tube dans de meilleures conditions. A 37°, il suffira de quelques heures pour que la transformation soit complète. Le froid entrave cette action fermentaire.

La tyrosinase, ferment oxydant, a transformé la tyrosine, substance blanche, en une matière colorante noirâtre qui se fixe sur les lanières à la façon d'une teinture. On obtient ainsi des cordes colorées depuis le rose faible jusqu'au noir brun, suivant la quantité et le degré de transformation de la tyrosine.

La tyrosinase, qui préside à ces transformations de la tyrosine, est très répandue dans le règne végétal. On la trouve surtout chez les champignons et, en particulier, dans les levures. Or celles-ci font partie de la flore intestinale, elles abondent aussi dans l'air. On ne peut donc s'étonner de rencontrer ce ferment oxydant au cours des diverses manipulations que l'on fait subir aux boyaux.

Ainsi donc, le froid empêche *le développement des microbes* et donne la possibilité de faire des cordes *facilement stérilisables*. Il *ralentit l'action des ferments solubles* et permet d'obtenir des *cordes solides* et d'aspect agréable.

Examinons maintenant les diverses manipulations que l'on fait subir aux boyaux. Nous indiquerons au fur et à mesure les modifications qu'il conviendrait d'apporter aux méthodes actuelles.

II. — Traitement des boyaux.

I. — *Récolte des boyaux*. — Cette récolte se fait directement aux abattoirs aussitôt l'animal tué, par le soin d'ouvriers rétribués par le boyaudier. On peut donc leur donner des ordres pour les inciter à opérer proprement. Évidemment, il ne s'agit pas de les obliger à mettre des gants stérilisés pour recueillir les intestins, mais ils peuvent manipuler ces boyaux avec un certain souci de propreté et éviter de les laisser traîner à même le sol au milieu de toutes les déjections.

Il y aurait dans cette manière de faire toute la différence que nous sommes heureux de constater, entre un laitier qui se lave les mains avant de traire, et celui qui se les lave dans le lait au fur et à mesure de la traite. Évidemment, ni l'un ni l'autre n'opère en bactériologiste, mais nous nous contentons des précautions de propreté prises par le premier. Nous n'en demandons pas davantage à l'ouvrier chargé de recueillir les intestins et de les vider de leur contenu alimentaire. Les intestins ainsi prélevés doivent être transportés rapidement à l'atelier, si possible en glacière ; sinon, ils y seront placés dès leur arrivée.

Il ne faut pas exagérer l'importance de cette première manipulation qui ne demande, en réalité, que d'être faite soigneusement. Il n'y a pas trop à craindre un envahissement rapide des tissus par les micro-organismes. L'intestin continue à vivre pendant un certain temps ; les cellules vivantes s'opposent à la pénétration des bactéries et, entre le moment où l'animal est sacrifié et celui où les cellules de l'organisme sont mortes, on dispose d'un certain laps de temps pendant lequel on peut compter sur la résistance particulière des cellules à l'envahis-

sement par les germes. Le ramassage de la matière première peut donc se faire dans de bonnes conditions, en procédant rapidement.

II. — *Raclage et soutilage* (1). — Ces manipulations sont celles qui soulèvent le plus de contestations entre la théorie et la pratique.

Théoriquement il serait préférable de fendre tout d'abord le boyau, de le mettre dans une solution alcaline et d'effectuer le raclage immédiatement après. On objecte à cela que le soutilage avant le raclage de la muqueuse est plus difficile à effectuer et occasionne plus de déchets.

Les boyaudiers préfèrent donc effectuer le raclage avant toute autre manipulation, mais ils se heurtent alors à une nouvelle difficulté pratique. Le boyau frais entier se racle très difficilement, car la muqueuse est encore trop adhérente à la musculeuse. La macération que l'on faisait subir aux boyaux, *opération que nous condamnons formellement*, n'a d'autre but que de faciliter cette séparation. Peut-être pourrait-on arriver à un résultat satisfaisant en injectant une solution alcaline assez concentrée, à l'intérieur des boyaux préalablement coupés par bouts de 4-5 mètres? Nous préférerions cette méthode à celle qui consiste à faire macérer les intestins pendant quelques heures dans une solution faible d'hypochlorite de soude ou même à injecter à l'intérieur cette solution antiseptique. Le chlore possède l'inconvénient d'altérer les tissus; aussi les cordes de petit diamètre préparées avec des boyaux ainsi traités, sont toujours moins résistantes.

En résumé, on peut fendre l'intestin aussitôt sa sortie de la glacière et le racler immédiatement, ou bien l'injecter avec une solution alcaline, pratiquer le raclage et, enfin, le soutilage. En tout cas, la macération du boyau, même dans un liquide antiseptique, doit être proscrite à tout jamais. De même on ne doit jamais faire de catguts avec des boyaux non fendus.

Les lanières sont ensuite laissées dans des bains alcalins (carbonate de soude, ou soude caustique) de titre variable et

(1) L'instrument qui sert à fendre les boyaux porte le nom de *soutil*; *sutil*, *subtil*, selon les ouvriers. Le vieux verbe « soutiler » a pour signification « rendre délié ».

soumises à plusieurs raclages au dé qui enlèvent les dernières parcelles de tissu inutile.

Ces traitements à l'eau alcaline n'altèrent en aucune façon les lanières, à condition toutefois que le titre alcalimétrique ne dépasse pas une certaine limite. On peut même les prolonger et obtenir une corde presque aussi résistante.

	Diamètre	Poids au mètre	Nombre de lanières	Résistance	Allongement à la rupture
Corde préparée normalement . .	0mm60	— 0gr37	3	10k40	8c7
Corde préparée avec des lanières ayant fait un séjour prolongé dans la solution de soude à 1 p. 1.000.	0mm60	— 0gr34	3	10k	8c5

Dans cette série de manipulations, il serait intéressant d'apporter une modification. Elle concerne la nature de l'eau employée.

L'eau dont on se sert est toujours calcaire, l'addition de carbonate de soude ou de soude amène la précipitation de carbonate de chaux sous forme d'un précipité gélatineux, colloïdal. Ce précipité se fixe sur les lanières à la manière d'une teinture et, forcément, les cordes obtenues sont beaucoup moins translucides.

Il serait donc indispensable d'employer des eaux privées de calcaire. On peut y arriver par l'établissement de réservoirs appropriés. L addition de carbonate de soude ou mieux d'oxalate d'ammoniaque à cette provision d'eau la débarrasserait de la chaux, qui se déposerait sous forme de carbonate ou d'oxalate. On prélèverait cette eau au moyen d'un robinet situé au-dessus de la couche de précipité ; elle servirait pour toutes les manipulations, y compris les coupages d'eau oxygénée.

III. — *Stérilisation des lanières*. — *a*) Bains a l'eau oxygénée. — Les lanières, traitées à l'eau alcaline et plusieurs fois raclées au dé, sont stérilisées pour détruire les microbes qui se trouvent à leur surface. En réalité, cette manipulation est déjà pratiquée en partie par le boyaudier en vue de leur blanchi-

ment. Il n'y a donc qu'à préciser les conditions de cette action chimique.

On emploie l'eau oxygénée à 10 volumes, ramenée à 5 volumes par addition d'eau. On la neutralise soit par l'ammoniaque, le borate de soude, le carbonate de soude, ou le silicate de soude. Ce dernier sel est à rejeter, car, l'eau oxygénée industrielle étant toujours acide, il se forme un précipité gélatineux de silice susceptible de se fixer sur les lanières. Pour la même raison, il est indispensable de faire le coupage avec de l'eau décalcifiée pour éviter la formation soit de sulfate, soit de phosphate de chaux.

Nous recommandons de suivre l'action de l'eau oxygénée et de renouveler celle-ci en temps opportun. On doit donc titrer cette eau oxygénée à différents moments de son contact sur les lanières.

On pourrait employer la méthode de dosage au permanganate; mais, comme ces titrages peuvent se répéter plusieurs fois par jour, il est préférable de mettre entre les mains du contremaître de l'atelier, un procédé simple, pratique, permettant de le renseigner rapidement sur la valeur de ses bains.

Nous proposons de se servir de l'uréomètre *Bouriez*, que nous avons légèrement modifié et adapté au dosage de l'eau oxygénée très diluée par une graduation spéciale (1).

On verse directement, ou mieux avec une pipette de 5 cent. cubes, l'eau oxygénée à essayer dans la boule A. Puis on complète avec de l'acide sulfurique au 1/10 jusqu'au trait 0. Tenant obliquement l'appareil de la main gauche, le pouce obturant l'orifice B, on introduit un comprimé de permanganate de potasse par l'ouverture D en évitant de le faire tomber dans le liquide. En adaptant le bouchon de caoutchouc on refoule ce comprimé qui tombe dans le réservoir H, on renverse complètement le tube en continuant à obturer en B, et on agite pour dissoudre le permanganate. L'eau oxygénée se décompose et la réaction est terminée lorsque le liquide reste coloré en rose. On enlève le pouce, la pression chasse le liquide et l'écoulement s'arrête de lui-même — l'ouverture étant capil-

(1) On peut également doser avec cet appareil une eau oxygénée à 10-12 volumes. Il suffit de prélever 1 cent. cube de cette eau avec une pipette graduée et d'opérer comme il est indiqué.

laire — lorsque l'équilibre de pression est obtenu (fig. 1). On retourne alors le tube. Il s'est écoulé une quantité d'eau égale au volume d'oxygène dégagé ; celui-ci représente le double du volume fourni par l'eau oxgénée, car le permanganate dégage un volume d'oxygène égal à celui de l'eau oxygénée. On lit la diminution des volumes sur les graduations de l'appareil. Si par exemple nous trouvons qu'il s'est écoulé 10 cent. cubes de

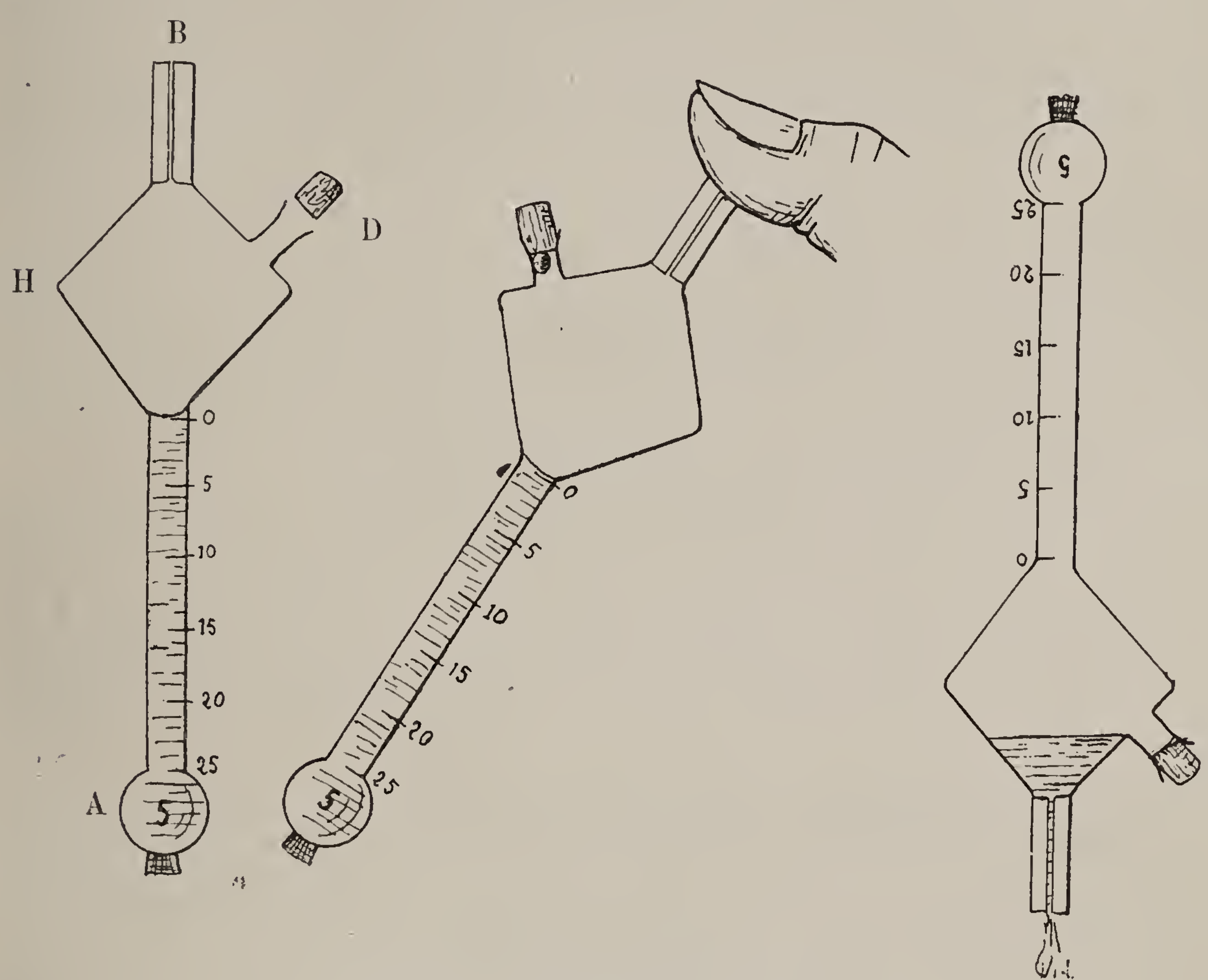


Fig. 1. — Appareil à dosage.

liquide, nous concluons que l'eau oxygénée a donné 5 volumes d'oxygène. La prise d'essai étant de 5 cent. cubes, c'est donc une eau oxygénée à 1 volume qui restait dans le bain.

Dans la pratique actuelle, chacun évite ces petits essais en renouvelant, à ses dépens, l'eau oxygénée plusieurs fois par jour.

Nous avons pu constater qu'au bout de quarante-huit heures d'un traitement bien conduit, *au laboratoire*, les lanières étaient stériles.

b) Bains a l'iode. — Pour obtenir la stérilisation des lanières on peut avantageusement employer l'eau iodée. Après les raclages en eaux alcalines, on rince à l'eau ordinaire, puis les lanières sont plongées dans une eau iodée à 5/1.000 obtenue

en ajoutant à l'eau décalcifiée une solution d'iode dans l'iodure de potassium.

Iode.	1 gr.
Iodure de potassium	0 gr. 25
Eau	10 cent. cubes.
Alcool.	10 cent. cubes.

100 cent. cubes de cette solution par litre d'eau.

Il faut employer une quantité suffisante de liquide pour éviter la décoloration de la solution iodée, car il y a toujours fixation d'un peu d'iode sur la matière albuminoïde (1). Lorsque la solution ne se décolore plus, on laisse en contact 24 ou 36 heures.

On retire les lanières, les lave à l'eau et on les traite par une solution faible de bisulfite de sodium (1 à 2 cent. cubes de la solution commerciale par litre d'eau) jusqu'à décoloration. On rince à l'eau avant d'effectuer le tordage (1).

Le contact avec la solution iodée gagnerait à être fait dans une pièce où la température est plus élevée que dans le reste de l'atelier. On sait, en effet, que l'action des antiseptiques est singulièrement augmentée par une légère élévation de température.

Pour la stérilisation des lanières nous ne saurions trop recommander l'action de l'iode ainsi employé. D'ailleurs l'action bactéricide, soit de l'eau oxygénée, soit de l'iode, sur les lanières serait à suivre pendant de nombreux mois, par un pharmacien ou un boyaudier compétent.

IV. — *Blanchiment.* — Certains boyaudiers, toujours en vue du blanchiment, traitent les lanières à leur sortie de l'eau oxygénée par une solution d'acide sulfureux.

Cette manipulation, à notre avis, est inutile et peut être nuisible à la solidité des cordes. L'acide sulfureux fixé sur la lanière ne tarde pas à se transformer en acide sulfurique ; il se transforme même très rapidement au contact de l'eau oxygénée. Or ces faibles traces d'acide ne montrent pas toujours leur action nuisible sur la corde nouvellement préparée. Cette

(1) Les cordes ainsi obtenues sont légèrement jaunâtres par suite de la combinaison de l'iode avec l'albumine, combinaison que le bisulfite ne peut enlever.

action destructive s'exerce surtout lorsqu'on chauffe ces cordes dans l'alcool, lors de la stérilisation terminale.

Si le boyaudier voulait utiliser quand même l'action de l'acide sulfureux, il pourrait se servir avec avantage de la solution de bisulfite de sodium qui, par oxydation, donnerait du sulfate de soude dont l'action sur la corde est nulle.

D'autres industriels placent les cordes nouvellement filées dans une chambre où l'on brûle du soufre. Il est indispensable que ces cordes soient mises au soufroir au sortir d'une solution alcaline, toujours pour éviter la formation d'acide sulfurique.

Cette pratique est préférable à la précédente. Bien que l'acide sulfureux passe pour un bactéricide médiocre, les conditions dans lesquelles se fait cette manipulation nous éloignent bien des méthodes de laboratoire.

Les cordes se trouvent en présence d'un grand excès d'acide sulfureux et à la décoloration recherchée vient s'ajouter l'action bactéricide.

C'est ainsi que la maison Z... nous a remis vingt cordes préparées avec un même lot de boyau. Dix cordes furent soufrées, les autres pas.

Après stérilisation par tyndallisation, les dix cordes non soufrées donnèrent des cultures, il n'y en eut que deux parmi les cordes soufrées.

Il semble donc y avoir avantage à passer les cordes au soufroir. Il est toujours préférable, comme le fait remarquer M. le professeur Quénu, d'ajouter les garanties aux garanties.

V. — *Cordes à résorption retardée.* — Les chirurgiens demandent parfois des catguts à résorption retardée. Ils désirent, en effet, que la ligature persiste un certain temps après l'opération. Nous donnerons quelques méthodes de préparation. Mais la formule de préparation de ces cordes peut énormément varier et il y a là un vaste champ d'investigations pour le chirurgien comme pour le pharmacien.

a) Cordes iodées. — Le traitement se fait comme pour la stérilisation à l'iode, mais, le contact avec la solution étant terminé, les lanières sont placées dans une solution faible de carbonate de sodium exempte d'alcali libre, en vue de faciliter

le métrage (1) ou effectuer ensuite le tordage. L'iode, dans ce cas, reste fixée sur la corde qui est rougeâtre.

b) CORDES CHROMÉES. — Après le traitement à l'eau oxygénée, on lave soigneusement les lanières à l'eau et on les plonge dans une solution d'acide chromique au 1/1.000 ou mieux de bichromate de potassium au 1/1.000. On laisse au contact de 24 à 48 heures; la solution est ensuite traitée par une solution faible de bisulfite de sodium (1 à 2 cent. cubes de la solution commerciale par litre). Lorsque la décoloration est obtenue, laver dans une eau légèrement alcaline. Terminer comme à l'ordinaire.

c) CORDES COLLARGOLÉES. — Ces cordes sont faites pour remplacer les catguts au nitrate d'argent.

Les lanières sont lavées après le traitement à l'eau oxygénée et sont plongées dans une pseudo-solution de collargol à 0.50/1.000. Cette substance colloïdale se fixe intensément sur la matière albuminoïde, on laisse en contact 24-48 heures. On lave avec une solution alcaline pour faciliter le métrage. On pratique ensuite le tordage.

On pourrait également préparer des catguts au protargol.

Les premiers essais de ces cordes ne paraissent pas encourageants à cause de la résorption trop lente.

CORDES SOUPLES. — La souplesse d'un catgut est une qualité assez recherchée de la part des chirurgiens. Par un traitement spécial on peut obtenir des cordes très souples sans nuire à la solidité. Cette qualité physique peut s'obtenir également pour les cordes à résorption retardée. La souplesse ne se perd pas par les traitements à l'alcool.

VI. — *Choix des lanières* (*pointage*). *Tordage.* — Au sortir des bains d'eau oxygénée ou iodée, les lanières sont stériles si l'emploi de ces antiseptiques a été convenablement fait.

A partir de ce moment, toutes les opérations doivent être exécutées le plus proprement possible. Les ouvrières chargées de trier les lanières (pointage) ou de les tordre, devront être averties de l'importance de ces manipulations. Elles seront

(1) La présence de soude ou de carbonate de soude facilite le glissement des lanières les unes sur les autres, et les nœuds gordiens que forment tous ces filaments enchevêtrés se dénouent avec la plus grande facilité.

munies de vêtements de travail en toile imperméable ou de blouses souvent renouvelées.

Ces opérations devraient se faire dans une pièce spéciale complètement isolée des autres pièces de l'atelier.

L'opération consistant à trier les lanières suivant leur longueur pourrait, à mon avis, se faire avant l'action des liquides antiseptiques. On éviterait ainsi une manipulation après la stérilisation, donc une chance de contagion.

La qualité d'une corde dépend beaucoup de sa torsion. Que doit donc être cette torsion pour une bonne corde? La question est assez complexe et n'a jamais été envisagée au point de vue de la théorie mécanique. Dans la pratique, on tord un peu « au petit bonheur » et l'on peut dire qu'en général beaucoup de cordes sont trop tordues.

Dans une corde soumise à un allongement, les efforts dans les filaments se transmettent les uns aux autres par frottement. Il y a un minimum de torsion variable avec le nombre de filaments. Dès que l'adhérence est suffisante, il est mauvais, au point de vue de la résistance, d'augmenter la torsion. On conçoit facilement que la résistance sera d'autant plus faible que les spires des filaments constituant la corde seront plus obliques sur la direction de l'effort. La corde doit être tordue suffisamment pour assurer l'adhérence des lanières, de façon que tous les fils cassent avant de glisser les uns sur les autres. Théoriquement, une série de fils parallèles dont l'adhérence serait parfaite aurait une solidité plus grande que les cordes tordues.

Nous consignons ici quelques essais faits sur ce sujet. Deux cordes provenant de lanières traitées de la même façon ont été tordues l'une normalement, l'autre d'une façon exagérée.

	Diamètre	Poids au mètre	Nombre de lanières	Résistance	Allongement à la rupture
Cordes à torsion normale	0mm60	0gr34	2	10k	8c7
Cordes à torsion exagérée	0mm62	0gr46	3	7k6	7c

On voit que la corde constituée par trois lanières est bien

moins résistante que la même corde à deux lanières. L'inconvénient d'un excès de torsion est ici très net.

Par contre, la torsion augmente la souplesse de la corde. C'est là un fait bien connu de tous les cordiers. Il y a donc un optimum de torsion pour réunir à la fois la solidité et la souplesse. Des essais pratiques, conduits méthodiquement, pourraient seuls nous renseigner sur ce point. Il y a là tout un vaste champ d'expériences pour les boyaudiers.

En général, nous croyons qu'une corde est suffisamment tordue lorsque l'inclinaison des lanières sur l'axe de la corde est comprise entre 20° et 25°. On peut facilement déterminer cet angle au microscope. On dessine au moyen de la chambre claire le contour de la corde et la direction des spires (fig. 2).

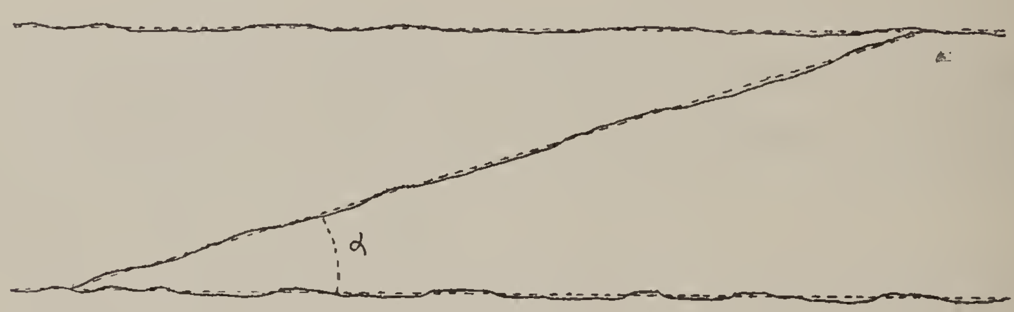


Fig. 2.

Au moyen du rapporteur on mesure facilement la valeur de l'angle.

L'emploi du microscope rendrait également de grands services pour l'examen de l'homogénéité de la corde et de son degré de polissage.

VII. — *Encollage.* — L'adhérence des lanières joue donc un rôle important pour la solidité de la corde. Tout ce qui peut augmenter l'adhérence, en permettant de diminuer la torsion, donnera plus de résistance et par suite plus de valeur à cette corde. Nous ne sommes donc pas partisan des tordages répétés au cours de la dessiccation de la corde comme on le pratique couramment. Ces manipulations ne font que détruire l'adhérence primitivement obtenue.

Nous avons fait un certain nombre d'essais d'encollage au moyen de la gomme, de la gélatine, de la gélose, de la caséine dissoute dans la soude. L'encollage à la gélatine doit être

rejeté pour les cordes à catgut, cette substance est trop difficile à stériliser. L'encollage à la gélose n'est pas pratique, car il doit se faire à une température assez élevée, de 40° à 45°.

Les chiffres ci-dessus montrent que la résistance est légèrement augmentée par un encollage.

A. — **Cordes traitées normalement et dont la stérilisation avait été obtenue par un traitement par la solution d'hypochlorite de soude non acidifiée** (*Cl. actif par litre*, 0 *gr.* 100).

	Diamètre	Poids au mètre	Nombre de lanières	Résistance	Allongement à la rupture
Corde sans encollage	0mm50	0gr28	2	7k600	6c5
Corde avec encollage à la gélatine.	0mm52	0gr29	2	8k900	7c2
Corde avec encollage à la gomme.	0mm52	0gr30	2	9k »	7c5
Corde avec encollage au caséinate de soude	0mm52	0gr31	2	8k200	6c5

B. — **Cordes traitées normalement et dont la stérilisation avait été obtenue par un traitement au permanganate suivi d'une réduction par le bisulfite de soude.**

	Diamètre	Poids au mètre	Nombre de lanières	Résistance	Allongement à la rupture
Corde sans encollage	0mm5	0gr35	2	8k200	7c »
Corde avec encollage à la gélatine.	0mm52	0gr35	2	9k900	8c5
Corde avec encollage au caséinate de soude.	0mm52	0gr31	2	8k500	7c10

Dans l'industrie il semble que l'on ait renoncé à cette pratique assez délicate de l'encollage et que l'on cherche à obtenir l'adhérence par des traitements chimiques ou mécaniques.

VIII. — *Action des substances chimiques.* — Y a-t-il des substances chimiques capables d'augmenter la résistance de la corde? Des expériences longues et minutieuses seraient à faire sur ce point. Le sujet ne nous a intéressé que très secon-

dairement, car nous sommes convaincu que les cordes à catguts faites selon nos indications auront toujours une solidité suffisante. Pour nous, il n'est pas douteux que certains sels chimiques augmentent la résistance et que d'autres la diminuent.

C'est ainsi que l'eau oxygénée, l'acide chromique, le permanganate, les sels acides diminuent la solidité. L'iode, à condition d'enlever l'excès de cette substance, par le bisulfite ou l'hyposulfite, semble l'augmenter légèrement. Il en est de même du collargol, du protargol. Cette action spéciale des colloïdes vis-à-vis d'un autre colloïde nous paraît intéressante et pleine de promesses.

		Diamètre	Poids au mètre	Nombre de lanières	Résistance	Allongement à la rupture
Cordes	traitées à l'iode	0mm70	0gr50	3	12k500	8c6
	traitées au collargol . .	0mm70	0gr57	3	12k200	8c5
	traitées au protargol . .	0mm70	0gr57	3	12k800	8c5
	traitées à l'eau oxygénée au 1/4	0mm70	0gr57	3	12k300	8c
	traitées à l'eau oxygénée au 1/3 prolongée. . . .	0mm75	0gr57	3	10k500	8c
	traitées à l'acide chromique	0mm70	0gr56	3	10k500	8c

Ces chiffres n'ont qu'une valeur documentaire; il faudrait multiplier ces expériences. La question est surtout intéressante en ce qui concerne les cordes industrielles. Les boyaudiers pourraient faire des essais dans cette voie. Le champ expérimental est d'ailleurs très limité, car toutes les substances chimiques ne peuvent être employées.

IX. — *Étrichage. — Polissage.* — La pratique de l'étrichage ne nous paraît pas d'un grand intérêt pour la fabrication du catgut.

Le polissage est une opération assez délicate pour la préparation de la corde harmonique; il présente ici moins d'importance (1).

(1) Un catgut trop lisse présente des inconvénients; les nœuds se défaisant trop facilement.

On le fera avec une pierre ponce fine pour débuter, puis avec de la poudre de pierre ponce et finalement avec un chiffon de laine imprégné d'un mélange de poudre de pierre ponce, d'éther de pétrole, d'huile de vaseline, ou de paraffine qui donnera un aspect brillant à la corde. On peut, d'ailleurs, se dispenser de cette dernière manipulation.

L'emploi des huiles grasses devra être complètement rejeté.

X. — *Numérotage. Résistance.* — Les cordes terminées, il ne reste plus qu'à les mesurer et déterminer leur résistance Il serait désirable d'employer le système décimal proposé par M. Woog, ingénieur attaché la Pharmacie Centrale de l'armée. Le chirurgien serait fixé de cette façon sur la grosseur d'un catgut. Actuellement, le calibrage varie avec chaque industriel et le n° 1 de l'un correspond très souvent au n° 0 du concurrent. C'est un moyen simple de prouver sa supériorité de fabrication.

Avec le numérotage décimal tous ces inconvénients disparaîtraient. Nous reproduisons intentionnellement le tableau de ce numérotage et mettons en regard la résistance à la traction directe de ces différentes cordes.

NUMÉROS commerciaux FRANÇAIS	CLASSEMENT DÉCIMAL	DIAMÈTRE en 1/10e DE MILLIMÈTRE	RÉSISTANCE à la TRACTION DIRECTE
. . . .	0	0 à 0,9	
. . . .	1	1 à 1,9	
000	2	2 à 2,9	1 kil. 200
00	3	3 à 3,9	1 kil. 800
0	4	4 à 4,9	4 kil. 500
1	5	5 à 5,9	6 kil. 500
2	6	6 à 6,9	9 kil. 500
3	7	7 à 7,9	13 kil. 500
4	8	8 à 8,9	15 kil.
5	9	9 à 9,9	17 kil.

Les résistances devraient également se mesurer sur un appareil d'un même modèle, et sur une longueur de 30 centimètres.

Les résistances à la « traction sur nœud », préconisées par

M. Astruc (1), ne nous paraissent pas répondre aux conditions de la pratique chirurgicale. Lorsque le chirurgien fait un nœud, il enserre un tissu gorgé de liquide qui vient hydrater le catgut. Dans le nœud pratiqué sur la corde en l'absence de toute substance interposée, la rupture se produit beaucoup plus rapidement parce qu'il y a au contraire déshydratation de la corde aux points de serrage. On ne se trouve donc pas dans des conditions identiques dans les deux cas (2).

XI. — *Manière de procéder pour faire un essai.* — Au cours de cet exposé nous avons montré l'intérêt qu'il y aurait à faire des essais méthodiques concernant la torsion, l'action des sels chimiques, etc... Il n'est pas inutile de donner quelques conseils concernant la manière de pratiquer ces essais, parce que plusieurs industriels nous ont avoué avoir été rebutés par les résultats discordants de l'expérimentation et de la pratique. On doit les conduire avec un véritable esprit scientifique.

Il ne faut pas faire un essai aujourd'hui et le répéter plusieurs mois plus tard, sans se préoccuper des conditions dans lesquelles s'est faite la première expérience. Par exemple, si nous voulons comparer deux méthodes, nous opérerons le même jour. Nous prendrons un nombre déterminé de boyaux provenant de moutons de même origine et de même âge autant que possible. Nous prélèverons des lanières dans la portion centrale de l'intestin et nous ferons en sorte de ne faire varier qu'un facteur, celui dont nous voulons étudier l'action. Opérer autrement est tout à fait inutile, car les résultats obtenus seraient de plus en plus contradictoires, puisque la matière première est chose excessivement variable.

Ce petit essai bien conduit et répété s'il le faut, nous dira dans quel sens la modification du facteur exerce son action. Dans un traitement industriel le résultat sera identique ; mais, comme il va se manifester sur des matières premières d'origine et de conditions différentes, il nous sera moins facile de le saisir et, souvent même, nous pourrons être déroutés par des résultats en apparence contradictoires.

(1) A. Astruc, Sur les fils chirurgicaux. *Journ. de Ph. et de Ch.*, **24**, 433, 1906

(2) On pourrait peut-être faire ce nœud sur un tube de caoutchouc mouillé et d'une grosseur suffisante.

De même, lorsque nous voudrons étudier l'action d'une substance chimique, nous devrons noter le volume du liquide, le poids de lanières mis en expérience. Dans la pratique, il faudra opérer avec les mêmes proportions. Si, en effet, dans un litre d'une solution au 1/1.000 nous avons ajouté 100 grammes de lanières, il ne faudra pas, à l'atelier, en mettre 1 kilogramme dans 4 litres de solution au 1/1.000; les deux essais ne sont nullement comparables, et l'on ne doit pas s'étonner d'obtenir des résultats discordants.

Enfin, il faudrait que les boyaudiers fissent connaissance avec les notions élémentaires de chimie. L'action des substances chimiques est trop importante pour qu'ils s'en désintéressent. L'emploi successif de plusieurs sels peut amener des réactions de précipitation, de réduction, de décoloration, qu'il faut prévoir. Aussi le traitement des lanières par le bichlorure de mercure n'est pas possible *a priori*. Le « pointage » des lanières doit toujours se faire en liquide alcalin. Le bichlorure de mercure fixé sur la matière albuminoïde donnera avec les alcalis un précipité jaune qui rendra les lanières inutilisables. Les exemples de ce genre seraient nombreux et il n'est pas nécessaire d'insister plus longuement.

*
* *

Les boyaudiers connaissent par le rapport de M. le professeur Quénu (1) les *desiderata* du corps médical. Ils trouveront développées dans les pages précédentes les raisons qui exigent impérieusement une modification dans leur manière de faire, et des indications sur la technique à employer. Un atelier spécialement aménagé, dans lequel toutes les manipulations se feraient sur des plans inclinés facilement lessivables, marbre, lave, opaline, ardoise, etc..., et d'où le bois serait totalement exclu, faciliterait grandement les améliorations projetées. Il ne serait pas inutile non plus « de donner à l'atelier non seulement la réalité, mais encore l'apparence de la propreté, de manière à ce qu'à son tour, le personnel éprouve le besoin d'être à l'unisson » (Quénu).

(1) Sur la fabrication du catgut. Rapport de M. E. Quénu. *Bulletin de l'Académie de Médecine.* Séance du 9 mai 1916, t. LXXV, p. 539-558.

Les cordes préparées dans de telles conditions pourraient être remises en toute confiance aux pharmaciens qui leur feraient subir un traitement préalable à l'alcool à 95°, à la température de 60° à 65°, pour leur enlever les sels d'acides gras (1). Ce traitement est indispensable : il est préférable, ainsi que l'a montré M. Désesquelle, au dégraissage à l'éther, à la benzine, au chloroforme. Ces solvants n'enlèvent que peu des matières grasses, puisque les cordes ne sont plus huilées. Ce sont les savons formés au cours des traitements alcalins qu'il importe d'enlever pour éviter leur dissolution, puis leur précipitation dans les tubes de catguts terminés. Alors interviendraient la stérilisation finale et le mode de présentation variables suivant les préférences des chirurgiens (2).

Les pharmaciens fabricants de catguts se sont émus d'un vœu émis par la Commission de l'Académie demandant « que les tubes de catgut portent la mention du contrôle et de l'*origine industrielle* de la corde ». Ils voyaient là un déplacement de responsabilités que d'après la loi ils doivent être seuls à assumer.

En fait, la responsabilité des boyaudiers est nulle, à condition toutefois qu'ils créent une fabrication de cordes de boyaux en vue de l'emploi chirurgical. Ils seraient grandement coupables si, prévenus comme ils le sont maintenant, ils continuaient à livrer au corps pharmaceutique des cordes préparées à boyaux fermentés ou à boyaux secs, sans le prévenir de la nature de ces produits. Ce serait abuser gravement de la confiance du pharmacien. Le boyaudier est dans la situation d'un artisan auquel on demande un travail fait d'une certaine façon et avec certains matériaux. Il doit se conformer aux désirs de son client. Lui-même ne supporterait pas que son tailleur lui livrât un habit rouge au lieu de la redingote noire qu'il a commandée. Il doit donc travailler d'après les indications qui lui sont données, sans s'occuper de l'augmentation du prix de revient, puisque l'objection commerciale est tout à fait négligeable pour le chirurgien.

(1) Un antiseptique pourrait déjà être ajouté à l'alcool.

(2) Nos préférences vont à la tyndallisation dans l'alcool à 90°, parce que c'est une méthode facile à réaliser industriellement. L'addition d'un antiseptique n'est qu'une précaution supplémentaire; elle est superflue pour des cordes préparées avec soin. Ce sont là des opinions personnelles susceptibles d'être discutées.

D'ailleurs, nous sommes tout à fait rassurés sur ce point; la fabrication spéciale d'une corde à catguts est chose certaine. Ou les boyaudiers la réaliseront, telle que nous la demandons, pour les pharmaciens, ou bien ces derniers seront fatalement amenés à en assurer la préparation en dehors du concours des boyaudiers.

Il n'y a pas d'autres solutions à la question si discutée dans ces derniers temps de la bonne préparation d'un catgut.

Avec des cordes préparées soigneusement, tous les ennuis de l'emploi du catgut disparaîtront. Alors aussi le contrôle de la stérilisation, par culture en bouillon, reprendra toute sa valeur, car il aura surtout pour but de vérifier non plus une *méthode de stérilisation*, mais de contrôler si les *conditions techniques* employées pour sa réalisation ont été bien observées.

Par l'emploi de bonnes cordes, par un contrôle permanent, le catgut restera le type de la ligature absorbable. Les succédanés qu'on a proposés, tendons de renne, de kanguroo, de queues de rat, ne peuvent songer à le supplanter. Ce ne sont que des curiosités de la science chirurgicale. Seule, la corde de boyau permet d'obtenir une matière première en grande quantité et à un prix abordable. Elle sera reine dans les salles de chirurgie le jour où une *fabrication spéciale constamment surveillée* lui assurera les qualités réclamées par le corps médical.

Lorsque les boyaudiers auront fait cette installation, et que les pharmaciens auront créé un contrôle permanent de leur stérilisation, si les chirurgiens constataient encore des accidents, nous pourrions alors les prier de vouloir bien soumettre leur technique à un examen critique de leur part. Nous leur demanderions de vouloir bien confier l'examen des pus de catguts à l'un de leurs confrères. Une idée générale de la nature de ces infections se dégagerait peu à peu, et peut-être trouverait-on en la nature de la flore microbienne, l'explication de ces ennuis répétés. Il serait alors facile d'y remédier.

En ce qui nous concerne, nous croyons avoir fait œuvre utile en étudiant dans toutes ses phases la préparation des cordes chirurgicales, déterminant autant que possible la technique qui permettra de livrer au chirurgien le catgut « stérile, solide, souple » qu'il désire. Les moyens permettant d'arriver

à ce résultat sont simples. Ils peuvent se résumer en la formule concise suivante : « *Fabrication surveillée*, *Stérilisation contrôlée.* »

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE X

Fig. 1. — Coupe transversale de l'intestin grêle de mouton dans la partie moyenne (jejunum). G. : 15/1 (Coloration par la méthode Van Gieson).

Fig. 2. — Coupe d'un intestin grêle mis à macérer dans l'eau. Tissu celluleux infecté par bactéries, spores, levures. G. : 600/1 (Coloration par la méthode Moeller + aurantia).

PLANCHE XI

Fig. 1. — Différentes phases de la fabrication d'une corde à catgut.

a, lanières après le fendage. G. : 30/1.
b, filandre. G. : 30/1.
c, filandre. G. : 80/1.
d, muqueuse détachée par le raclage. G. : 30/1.
e, lanières après les différents raclages et avant le filage. G. : 30/1.

Fig. 2. — Coupe transversale d'une corde nouvellement filée, constituée par 3 lanières tordues de 80 tours. G. : 30/1.

Fig. 3. — Intestin grêle arraché de sa gaine musculeuse à l'abattoir.

Fig. 4. — Portion de tissu musculeux restée adhérente sur le boyau (filandre), et enlevée à la boyauderie.

ORIGINE
ET DISTRIBUTION DE L'URÉE DANS LA NATURE
APPLICATION
DE NOUVELLES MÉTHODES D'ANALYSE DE L'URÉE
BASÉES SUR L'EMPLOI DU XANTHYDROL

par R. FOSSE.

(Suite et fin).

CINQUIÈME PARTIE

L'URÉE CHEZ LES VÉGÉTAUX

CHAPITRE PREMIER

Les animaux, vertébrés ou invertébrés, sont-ils les seuls êtres vivants capables de produire l'urée?

Cette faculté appartient aussi aux végétaux inférieurs ou d'organisation élevée.

1. Présence de l'urée dans les végétaux communs alimentaires. — Nous avons d'abord constaté que l'urée, dont la présence dans le monde végétal n'était connue que pour quelques champignons [Bamberger et Landsiedl (1), Gaze (2), Goris et Mascré (3)], existe aussi cependant dans nombre de plantes alimentaires : endive, chicorée, melon, potiron, chou-fleur, navet, épinard, carotte, pomme de terre.

Expérience. — Le suc de 10 kilogrammes de feuilles d'endive, soigneusement lavées, traité par 1/1.000 d'acide acétique, filtré,

(1) Bamberger et Landsield, *Monatshefte f. Chemie*, 1903, t. XXIV, p. 218; t. XXVI, 1905, p. 1109.

(2) Gaze, *Archiv. de pharmacie*, 1905, t. CCXLIII, p. 78.

(3) Goris et Mascré, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1908, t, CXLVII, p. 1488; *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, 1909, t. 16, p. 82.

est distillé dans le vide au bain d'eau (1). Le résidu sirupeux est repris par l'alcool et la liqueur alcoolique évaporée sous pression réduite. On introduit du xanthydrol, en solution alcoolique à 1/20, dans la solution colorée, obtenue en épuisant par de l'acide acétique cristallisable le contenu du ballon. Le précipité, fortement coloré, recueilli après 20 heures, pulvérisé, épuisé par une lessive de soude chaude, puis lavé à l'alcool, est, finalement, traité par la pyridine bouillante, qui dépose par refroidissement des cristaux non colorés.

L'analyse assigne à ce corps, recristallisé une seconde fois, la formule de la dixanthylurée.

La matière fond, en se décomposant, après 9 minutes de chauffage à 261° (corrigé).

2. Présence de l'urée dans le sol. — L'urée, incluse dans les champignons et les végétaux précités, peut-elle être considérée comme un produit physiologique élaboré par leurs cellules?

De nombreuses recherches nous ont toujours conduit à constater la présence de ce corps dans :

1° Le terreau de feuilles et de bois, prélevé dans les forêts ;
2° Le terreau de maraîcher;
3° La terre végétale ;
4° La terre non cultivée.

On ne peut donc décider immédiatement après ces expériences, si la carbamide, trouvée dans les champignons et les végétaux communs alimentaires, est engendrée par eux ou simplement puisée dans le sol avec les matériaux nutritifs.

Est-elle d'origine végétale, animale ou même minérale?

Toute conclusion, tirée des seules expériences qui précèdent, serait prématurée.

Nous avons eu la bonne fortune de trouver la solution de cet intéressant problème en démontrant que le végétal est, comme l'animal, capable de créer l'urée.

Cette amide, considérée jusque-là comme un produit d'excrétion et d'origine purement animales, peut être, en effet, nette-

(1) Il est généralement préférable de broyer les plantes avec de l'acide acétique, avant d'en extraire le suc, afin d'éviter l'hydrolyse de l'urée par l'uréase qu'elles peuvent éventuellement contenir.

ment mise en évidence pendant la germination des moisissures et des graines de végétaux supérieurs.

Nous avons été conduit à tenter ces investigations *in vivo*, après avoir découvert que les trois principales classes de matériaux organiques des êtres vivants et l'ammoniaque peuvent participer, comme on l'a vu, à la formation artificielle de l'urée.

Puisque la *carbamide est un produit constant de l'oxydation artificielle des principes naturels*, il était à prévoir que ce même corps doit prendre naissance durant la vie de la moisissure qui brûle du sucre et de l'ammoniaque ou lorsque la graine consomme ses réserves de protéiques, d'hydrocarbones et de graisses pendant le phénomène de la germination.

L'expérience vérifie très largement ces prévisions. Le xanthydrol permet, en effet, de mettre nettement en évidence l'existence, jusqu'ici insoupçonnée, de l'urée dans ces deux classes de végétaux, cultivés dans des milieux exempts d'urée, le liquide Raulin, l'eau pure et l'eau de source.

3. Caractérisation de l'urée dans le suc cellulaire de *l'Aspergillus niger* :

Expérience I. — On broie, avec 50 grammes d'acide acétique, 500 grammes du mycélium, récolté à la surface du liquide de Raulin *ensemencé spontanément*, conservé à l'étuve dans des cuvettes photographiques. Le suc d'expression est distillé au bain-marie dans le vide; le produit sirupeux précipité par l'alcool; la solution évaporée à sec sous pression réduite et le résidu épuisé par l'acide acétique. La liqueur, additionnée de xanthydrol, dissous dans l'acide acétique, est abandonnée pendant deux jours dans un endroit frais. Le dépôt, rassemblé par centrifugation, traité par une lessive alcaline bouillante, lavé à l'alcool froid, est épuisé finalement par un peu de pyridine à l'ébullition. L'urée dixanthylée qui s'en sépare est soumise à une nouvelle cristallisation.

Chauffée en tube étroit, fermé aux deux extrémités, dans la vapeur d'oxyde de phényle maintenu bouillant (+261° corrigé), elle conserve son état primitif quelques minutes, puis se ramollit, se colore et fond, avec décomposition, en un liquide brun. Ce résultat est atteint après 8 à 9 minutes.

Les diverses manipulations nécessitées pour purifier le faible

dépôt d'uréine et le séparer des liqueurs acétique, alcaline, alcoolique, sont presque impraticables par filtration. Elles ont pu être exécutées sans difficulté à l'aide des excellentes centrifugeuses Jouan.

Expérience II. — L'urée a été également caractérisée dans le suc cellulaire de l'*Aspergillus niger*, ayant ou non sporulé, *cultivé aseptiquement* à 37°, dans des ballons, sur liquide Raulin, ensemencé avec les spores de cultures pures que nous devons à la bonté de M. le Dr Calmette.

Le suc d'expression de 910 grammes de mycélium, ainsi formé, broyé avec 100 cent. cubes d'acide acétique, est concentré dans le vide et le produit repris par l'alcool. L'enduit visqueux laissé par évaporation de la solution, traité par l'acide acétique cristallisable, dépose des cristaux de *Mannite*, dont on connaît l'existence dans les moisissures. Müntz (1), Bourquelot.

En précipitant l'urée par la méthode précédente, nous avons isolé, après une cristallisation dans la pyridine, 0 gr. 07 d'uréine, dont la fusion-décomposition exigeait seulement 4 minutes de chauffage à + 261°.

Expérience III. — Le même résultat positif a été obtenu avec le suc d'*Aspergillus* développé sur milieu Raulin, modifié par la substitution du chlorhydrate d'ammoniaque au nitrate.

4. Le Penicillium glaucum crée également de l'urée dans son protoplasme, ainsi que nous avons pu le constater sur une certaine quantité de ce végétal, que M. Massol, le distingué et regretté chef de laboratoire de l'Institut Pasteur de Lille, a eu l'obligeance de récolter pour ces recherches.

5 Caractérisation de l'urée dans la graine en germination. — Après l'avoir décelée, d'abord, dans le pois, maintenu 8 à 10 jours à l'étuve vers 25°, sur la ouate humide, nous avons effectué de nouvelles recherches sur la plantule de ce végétal développée au sein du sable siliceux, calciné et lavé, humecté d'eau distillée, à la lumière et à la température du laboratoire.

Expériences. — Le végétal, âgé de 1 mois, haut de 12 à

(1) Müntz, *Annales de Chimie et Physique*, 1876, série V, t. 8, p. 56.

15 centimètres, lavé à l'eau distillée, est broyé avec de l'acide acétique et le produit épuisé par l'alcool fort.

Le résidu de la distillation dans le vide des liqueurs alcooliques est repris par l'acide acétique et la solution obtenue additionnée de xanthydrol. Le précipité, recueilli par centrifugation, est lavé à la potasse chaude, à l'alcool froid, pour être finalement dissous dans un peu de pyridine bouillante.

Poids d'urée dixanthylée cristallisée, pour 15 gr. 5 de plante sèche : 0 gr. 0695.

Rendement en urée, pour 1 kilogramme de plante sèche, y compris les cotylédons : 0 gr. 64.

L'urée a été décelée en procédant ainsi, dans :

Le Blé, ayant germé sur l'eau de chaux 24 heures à l'étuve et ensuite 11 jours à la température ordinaire ;

Le Trèfle, soumis aux mêmes conditions ;

La Fève des Marais, après 6 semaines de germination ;

Le Malt d'Orge non touraillé des brasseurs.

6. Présence de l'urée dans la graine a l'état de repos. — En n'opérant que sur 100 grammes de graines, préalablement lavées superficiellement à l'alcool, puis séchées et réduites en farine, nous avons pu déceler l'urée dans le *Blé*, le *Maïs* et le *Pois*.

La dose d'urée, isolée sous la forme de sa combinaison xanthylée, n'atteignait cependant pas 1 centigramme (0 gr. 01) par kilogramme de graine sèche.

7. Accumulation de l'urée dans l'embryon, son absence ou sa raréfaction dans les cotylédons. — *Fève des marais*. — Après 6 semaines de germination, les plantules, très vigoureuses, furent séparées des cotylédons et l'urée recherchée dans chacune des deux parties. Tandis que des cotylédons (98 grammes à l'état frais) on ne put en extraire la moindre trace (1), les plantules (70 grammes à l'état frais) donnèrent 0 gr. 055 d'uréine recristallisée, c'est-à-dire 0 gr. 113 d'urée par kilogramme de plante fraîche.

(1) De nouvelles expériences seront instituées dans le but de vérifier si l'absence de l'urée dans les cotylédons était due à l'état de développement de cet organe ou à la présence de l'uréase, contre l'influence destructrice de laquelle nous ne prîmes peut-être pas des précautions suffisantes.

Radicelles du malt d'orge des brasseries (desséchées à basse température) :

La recherche de l'urée conduit aisément et nettement à un résultat positif.

Extrait de touraillon ou maltopeptone du commerce :

Même résultat.

Embryon du haricot. — 20 grammes de germes, provenant de la décortication industrielle de ce légume, ont fourni près de 1 centigramme d'uréine cristallisée, tandis que 500 grammes de cotylédons de la même graine (décortiqués du commerce), n'ont produit qu'une trace de ce corps.

8. Présence de l'urée dans la plantule du maïs, ayant germé aseptiquement, et dans la plante adulte développée sur liquide nutritif stérile. — Ces deux faits ont été reconnus par l'examen des plantes que M. Mazé a eu l'obligeance de mettre à notre disposition. Il en résulte nettement que la cellule végétale est, à elle seule, capable de créer l'urée, sans le concours des micro-organismes.

9. Précipitation directe de l'urée des sucs ou des macérations, sans concentration préalable. — La méthode suivie jusqu'ici pour caractériser ce corps comportait les opérations suivantes :

1° Concentration, au bain-marie, dans le vide du suc d'expression de la plante, broyée avec de l'acide acétique ;

2° Épuisement acétique de l'extrait ;

3° Traitement de la solution par le xanthydrol ;

4° Purification de l'uréine par cristallisation.

Le danger de scinder les albuminoïdes en urée en vertu d'une réaction que nous avons déjà décrite (hydrolyse alcaline des albuminoïdes), était rigoureusement exclu de nos expériences, grâce à la nature acide du liquide soumis au chauffage.

Mais, objectera-t-on, avec plus ou moins de raison, même dans ces circonstances, d'autres principes naturels, connus ou encore inconnus, ne sont-ils pas capables d'engendrer des traces de carbamide?

Si peu vraisemblable que paraisse cette hypothèse, nous avons cependant tenu à l'écarter afin de dissiper le moindre

doute sur l'existence réelle de l'urée libre dans les végétaux. Nous avons cherché la possibilité de retrancher du mode opératoire le chauffage, même à *la température peu élevée, nécessaire pour la concentration dans le vide.*

Le but visé a été atteint.

Le xanthydrol permet de précipiter l'urée sous la forme de la combinaison xanthylée, directement à partir de sucs ou de macérations de plantes, n'ayant pas subi l'action de la chaleur, non concentrés et refroidis.

Expériences.

Potiron. — Du xanthydrol (1 gramme), en solution dans l'acide acétique (10 cent. cubes), est introduit dans le suc d'expression de ce fruit, broyé avec 10 p. 100 de son poids d'acide acétique, rendu limpide par filtration (5.060 cent. cubes). Après 24 heures de séjour à la glacière, le dépôt, rassemblé par centrifugation, chauffé avec une lessive alcaline, lavé à l'eau et à l'alcool, est épuisé par la pyridine bouillante.

Poids d'urée xanthylée, pure à l'analyse . . . . . 0 gr. 25

Dosage de l'azote (Dumas).

	N p. 100
Trouvé	6,85
Calculé pour $CO.\left[NH{-}CH\left\langle\begin{matrix}C^6H^4\\C^6H^4\end{matrix}\right\rangle O\right]^2$	6,66

Des eaux mères acétiques, une nouvelle dose d'uréine, pesant environ 0 gr. 10, après recristallisation, est recueillie le lendemain.

Maïs (à l'état de repos). — On place en macération, durant 5 heures, avec le double de son poids d'acide acétique aqueux à 1/10, cette semence (400 grammes) réduite en farine après lavages préalables à l'eau, à l'alcool et dessiccation. Le liquide d'expression filtré (580 cent. cubes), additionné de xanthydrol (0 gr. 18), est conservé 2 jours à la glacière. Le dépôt, épuisé par une lessive alcaline bouillante, lavé à l'eau, à l'alcool, est traité par ce dernier solvant à l'ébullition durant 5 minutes.

La solution filtrée dépose par refroidissement l'urée xanthylée, fondant en un liquide coloré après quelques minutes de séjour dans la vapeur d'oxyde de phényle.

Fève des marais (plantule). — Le liquide un peu trouble (75 cent. cubes), provenant de la centrifugation du suc d'expression de ce végétal broyé avec 1/10 d'acide acétique, reçoit du xanthydrol (0 gr. 03) en solution acétique. Après 2 jours à la glacière, centrifugation, traitement du précipité à la potasse chaude, à l'alcool froid, on isole l'uréine brute que l'on purifie par cristallisation dans un peu de pyridine.

Les eaux mères acétiques, pourvues de nouvelles doses successives de xanthydrol, produisent encore à plusieurs reprises de l'uréine pure.

Cette méthode a été appliquée avec plein succès à des végétaux déjà examinés, ainsi qu'à de nouveaux individus. Leur ensemble figure ci-dessous.

10. Tableau concernant la précipitation directe de l'urée dans des sucs ou des macérations de végétaux.

NOMS	MILIEUX D CULTURE	PARTIE EXAMINÉE
	Moisissures.	
Aspergillus niger.	Liquide Raulin.	Mycélium.
Penicillium glaucum.	Liquide Raulin.	Mycélium.
	Végétaux supérieurs adultes.	
Carotte (*Daucus Carotta Omb.*).	Terre maraîchère.	Pivot.
Pomme de terre (*Solanum tuberosum* Sol.).	Terre arable.	Tubercule.
Épinard (*Spinacia oleracea* Comp.).	Terre maraîchère.	Feuille.

NOMS	MILIEUX DE CULTURE	PARTIE EXAMINÉE
Végétaux supérieurs adultes (*suite.*)		
Endive (*Cichorium endivia* Comp.).	Fumier	Feuille.
Chicorée frisée.	Terre maraîchère.	Feuille.
Navet (*Brassica napus* Cruc.).	Terre maraîchère.	Pivot.
Haricot vert (*Phaseolus vulgaris* Lég.)	Terre maraîchère.	Gousse fraîche.
Petit Pois (*Pisum sativum* Lég.).	Terre maraîchère.	Graine fraîche.
Pourpier (*Portucala oleracea* Lég.).	Terre maraîchère.	Feuille.
Lactuca virosa.	Terre non fumée.	Feuille et Tige.
Potiron (*Cucurbita maxima* Cucurb.).	Terre arable.	Fruit.
Graine à l'état de repos.		
Maïs jaune (*Zea Mays* Gram.).		Graine entière.
Plantules.		
Blé (*Triticum* Gr.).	Eau de la ville.	Plantule avec cotylédon.
		Plantule seule.
Seigle (*Secale* Gr.).	Eau de la ville.	Plantule complète âgée de 1 mois.
		Partie verte âgée de 12 jours.
Soleil de Russie (*Helianthus annuus* Comp.).	Eau de la ville.	Plante complète âgée de 1 mois.
Betterave demi-sucrière. (*Beta vulgaris* Chen.).	Eau de la ville.	Plantule complète.

NOMS	MILIEUX DE CULTURE	PARTIE EXAMINÉE
Fève des Marais (*Vicia Faba* Lég.).	Eau de la ville.	Plantule seule.
Fève naine.	Eau de la ville.	Plantule seule.
Fèverolle.	Eau de la ville.	Plantule seule.
Trèfle incarnat (*Trifolium incarnatum* Lég.).	Eau de la ville.	Plantule avec cotylédons.
Luzerne (*Medicago sativa* Lég.).	Eau de la ville.	Plantule avec cotylédons.
Lentille (*Ervum Lens* Lég.).	Eau de la ville.	Plantule avec cotylédons.
Haricot à rames (*Phaseolus vulgaris* Lég.).	Sable humide.	Plantule.
Gesse (*Lathyrus* Lég.).	Eau de la ville.	Plantule.
Gazon (Gram.).	Eau de la ville.	Pousses vertes.
Potiron (*Cucurbita maxima* Cucurb.).	Eau de la ville.	Plante complète âgée de 1 mois.

CHAPITRE II

PRÉSENCE SIMULTANÉE DE L'URÉE ET DE L'URÉASE DANS LE MÊME VÉGÉTAL
ROLE DE CETTE DIASTASE DANS LES VÉGÉTAUX

1. On connaît depuis longtemps l'hydratation spontanée qui transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque :

$$CO\begin{cases}NH^2\\NH^2\end{cases} + 2\,H^2O = CO\begin{cases}O.NH^4\\O.NH^4\end{cases}$$

Ce phénomène découvert dans les milieux d'origine animale (Vauquelin, 1824; Jaquemart), a été plus tard observé sous l'influence des micro-organismes (Pasteur, 1860).

Van Tieghem a établi qu'un nombre considérable de microbes sont susceptibles de produire le même résultat.

On sait aujourd'hui que cette hydrolyse de l'urée est l'œuvre d'une diastase, l'*uréase*, sécrétée par les micro-organismes (Musculus 1898, Miquel, Beijerinck, Leube, Yaksch...).

Beaucoup plus récente est la découverte par Shibata (1) [1904], et par Takeuchi (2) [1909], de l'uréase dans les végétaux.

Végétaux contenant de l'uréase.

NOMS	PARTIE DE LA PLANTE	AUTEURS
Aspergillus niger	Mycélium.	Shibata.
Soja (diverses variétés) .	Semence et plantule.	Takeuchi.
Soja	Nodosités.	Li-Yu-Ying et Grandovinet.
Haricot.	Semence.	Takeuchi.
Avoine.	Semence.	Takeuchi.
Riz.	Semence.	id.
Sarrazin	Semence.	id.
Melon	Semence.	id.
Froment	Pousses.	Kiesel (1).
Robinia	Semence.	Zemplen (2).
Ricin.	Semence.	Falk (3).
Bambou	Rejetons.	Kan Kato (4)

(1) Kiesel, *Chemisches Centralb.*, 1912, 1, 358.
(2) Zemplen, *Ibid.*, 1912, 2, 877.
(3) Falk, *Ibid.*, 1913, 1, 1527.
(4) Kan Kato, *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, 1911, t. LXXV, p. 456-474; *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1912, p. 566.

2. Nous avons, de notre côté, constaté que nombre de végétaux hydrolysent l'urée avec plus ou moins de rapidité, en présence de chloroforme, à la température ordinaire ou à 45°.

(1) Shibata, Hofmeister, *Beiträge*, 1904, t. V, p. 384.
(2) Takeuchi, Application de l'uréase à la fabrication du sulfate d'ammonium aux dépens de l'urée de l'urine. *Journal coll. agric.* Tokyo, t. III, p. 14. — *Chemisches Centralblatt*, 1909, t. II, p. 635; 1914, t. I, p. 1530; — *Chemische Zeitung*, t. XXV, p. 408.

Végétaux hydrolysant l'urée en présence du chloroforme.

NOMS	PARTIE DE LA PLANTE
Polypore du châtaignier	Thalle.
Polypore du pommier	Thalle.
Ergot de seigle.	
Mousses	Partie verte.
Sainfoin	Graine du commerce.
Mélilot	Graine du commerce.
Trèfle	Graine du commerce.
Lupin blanc	Graine du commerce.
Pin	Graine du commerce.
Carotte	Graine du commerce.
Chanvre	Graine du commerce.
Amandier	Graine du commerce.
Oranger	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Mandarinier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Poirier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Pommier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Prunier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Abricotier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Amandier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Cerisier	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Potiron	Graine fraîche prise dans fruit très mûr.
Marronnier	Bourgeons folliaires. Jeunes feuilles (avril).
Frêne	Jeunes feuilles (avril).
Tilleul	Jeunes feuilles (avril).
Ortie	Jeunes feuilles (avril).
Lupin blanc	Plantule Nodosites fraîches Racine fraîche.

3. D'après Takeuchi (1), Armstrong et Horton (2), l'uréase du

(1) Takeuchi, *loc. cit.*

(2) Armstrong et Horton, *Chemisches Centralblatt*, 1913, 2, 1034; *Proceed Roy. Soc. B*, t. LXXXV, p. 109-127; *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1913, p. 168.

Soja, douée d'un caractère sélectif très net, agit seulement sur l'urée et non sur d'autres substances, même lorsque celles-ci possèdent une constitution très voisine de l'urée (urées mono et bisubstituées).

De quelle utilité peut être l'uréase pour la cellule végétale? *Il ne nous semble pas douteux que son rôle, jusqu'ici complètement insoupçonné, consiste précisément à transformer en ammoniaque, éminemment assimilable, l'urée créée par la plante ou empruntée par elle au milieu ambiant.*

Si cette explication, qui se présente immédiatement à l'esprit, n'a pas encore été proposée, c'est qu'on ignorait, avant nos recherches, la production physiologique de l'urée par les végétaux.

4. Si l'on compare les tableaux qui précèdent, concernant les plantes qui contiennent de l'urée d'une part, de l'uréase d'autre part, on constate que l'*Aspergillus niger*, les pousses de blé, les semences de haricot et de trèfle posséderaient à la fois urée et uréase.

Le même végétal peut-il être réellement le siège des deux phénomènes inverses de formation et de destruction de l'urée? Il est facile de démontrer qu'il en est bien ainsi par deux expériences exécutées sur deux échantillons identiques, appartenant au même individu.

5. Végétaux inférieurs. — *Formation et hydrolyse de l'urée par l'*Aspergillus niger :

a) La présence de l'urée a été de nouveau caractérisée à deux reprises dans le suc d'expression de cette plante par la méthode déjà décrite.

b) 1 gramme de mycélium frais de la même culture aseptique, contenant 56,6 p. 100 d'eau, détruit 0 gr. 06 d'urée, environ, en présence de chloroforme, après 6 heures à $+46°$. L'urée reste inaltérée au contact du champignon préalablement porté à l'autoclave.

6. Végétaux supérieurs. — *Formation et hydrolyse de l'urée par la plantule du Petit pois (Prince Albert), âgée de quatorze jours :*

a) L'urée dixanthylée a été retirée sans peine du suc d'expression, centrifugé et additionné de xanthydrol, provenant de cette plante broyée avec de l'acide acétique.

b) Le suc d'expression centrifugé (5 cent. cubes) du même lot de plantules est additionné de son volume de liqueur d'urée à 1 p. 100 et de chloroforme (1 cent. cube). Au bain d'eau en vase clos à 44°, le mélange devient alcalin et l'on constate la disparition d'une quantité d'urée égale à 0 gr. 015 après 15 h. 30 et à 0 gr. 039 après 39 h. 30. L'urée n'est nullement attaquée dans une expérience témoin effectuée avec le suc bouilli.

Formation et hydrolyse de l'urée par la plantule du Soja hispida *à grain jaune, âgée de 35 jours* (1) :

a) Un poids de 150 grammes de plante fraîche, conduit à une quantité d'uréine largement suffisante, après sa recristallisation, pour permettre de déterminer plusieurs fois sa fusion-décomposition.

b) Le même végétal, broyé et mêlé à une solution d'urée, en présence de chloroforme, lui communique une forte réaction alcaline en moins d'une heure à + 44°. Le mélange formé par cette plantule broyée (4 grammes), une liqueur d'urée à 5 p. 1.000 et du chloroforme (1 cent. cube) ne contenait plus qu'une trace indosable d'urée après 5 heures à + 44°.

En répétant la même expérience avec la plante, préalablement chauffée à l'autoclave, la mixture n'acquiert pas la moindre réaction alcaline et l'on retrouve au dosage la totalité de l'urée mise en réaction.

7. Puisque la cellule végétale engendre l'urée quand elle crée de nouveaux tissus en brûlant ses matières de réserve, puisque, d'autre part, tous les protéiques sont capables de former directement de l'urée par hydrolyse alcaline, on pourrait peut-être se demander si, malgré l'état actuel de nos connaissances, défavorable d'ailleurs à cette hypothèse, la molécule de l'urée ne fait pas partie constituante de l'albumine.

La présence de l'uréase dans les végétaux s'oppose à cette manière de voir. *Elle démontre, en effet, que la molécule de l'urée intacte ne peut participer à la nutrition azotée sans subir une dislocation préalable.*

8. C'est grâce à l'uréase que l'urée peut servir d'aliment

(1) Privée de ses feuilles cotylédonaires, cultivée sur l'eau de la ville, à la lumière, à la température ordinaire, en cristallisoir couvert d'une plaque de verre.

azoté exclusif des végétaux, comme dans les anciennes expériences de George Ville en 1862 (1).

Ce savant a le premier formulé la possibilité de nourrir des plantes aux dépens de l'azote exclusivement fourni par les *sels d'ammonium*, par des *amines* (méthyl-, éthylamine à l'état de sel) et par une *amide*, l'urée.

G. Ville observe un curieux phénomène. Tandis que les plantes se développent normalement sur des sols artificiels, pourvus d'azote à l'état d'*ammoniaque*, de *méthylamine*, *d'éthylamine*, ou d'*urée*, elles périssent, généralement, au contraire, si elles n'ont à leur disposition d'autre matière azotée que l'*éthylurée*.

C'est peut-être à l'absence d'une diastase capable de dédoubler l'éthylurée, qu'il faut attribuer les tentatives infructueuses de ce savant, pour cultiver jusqu'à leur développement complet des grains de froment, ensemencés dans un sol de sable calciné, pourvu de phosphate de chaux, de magnésie, de silicate de potasse et d'azote, exclusivement offert sous la forme d'éthylurée.

Voici, d'ailleurs, les passages essentiels du travail de G. Ville :

« L'urée est un puissant auxiliaire pour la végétation; elle s'est toujours montrée plus efficace que le carbonate d'ammoniaque. Dans un sol de sable, son influence favorable se manifeste immédiatement.

« Si l'urée exerce une influence des plus actives sur la végétation, il n'en est pas de même de l'éthylurée, employée à proportion égale d'azote, qui ne produit pas le moindre effet.

« Avec l'éthylurée, la végétation est chétive, languissante et rabougrie, absolument comme si le sable n'avait pas reçu l'addition d'une matière azotée.

« Depuis deux ans, j'ai répété l'expérience un grand nombre de fois. Le résultat n'a pas varié. Lorsque le sol a reçu une addition d'éthylurée, les plantes prospèrent beaucoup moins et accusent sa présence par un symptôme particulier.

« La germination se fait comme à l'ordinaire, ni plus vite ni plus lentement; mais, lorsque les jeunes plantes commencent à pousser leurs premières feuilles, l'extrémité devient tout à fait blanche et se dessèche. La résorption de la matière verte s'étend au reste de la feuille et continue de se produire sur une partie des feuilles suivantes.

« Sur plus de vingt cultures que j'ai été à même d'instituer, il est arrivé

(1) G. Ville, L'urée et la végétation. De l'importance comparée des agents de la production végétale. L'urée, ayant une influence favorable sur la végétation, pourquoi l'éthylurée se montre-t-elle inactive? *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1862, t. LV, p. 32.

deux fois où le phénomène s'est manifesté d'une manière un peu différente. Au début, les choses se sont passées comme je viens de le dire ; l'état souffreteux des cultures s'est prolongé pendant 1 mois à 6 semaines ; puis, sans que rien d'apparent pût m'expliquer ce changement, les plantes ont reverdi et la végétation s'est ranimée. J'incline à penser que, dans ces deux cas, l'éthylurée a changé d'état et que le réveil de la végétation doit être rapporté aux produits de sa décomposition. »

Les conclusions des expériences de G. Ville, instituées sans précautions spéciales contre l'intervention des microbes, à une époque où l'on se préoccupait peu de leur influence, ont été, dans des conditions d'asepsie rigoureuse, confirmées en ce qui concerne la nutrition de la plante aux dépens de l'azote de l'*ammoniaque*, des *amines* grasses, de *l'urée* et des *amides* en général.

C'est d'abord Müntz (1) qui démontre que sur un sol, privé de nitrates et d'organismes nitrifiants, la cellule végétale peut se nourrir exclusivement de l'azote du sulfate d'ammonium.

C'est Mazé (2) qui obtient le même résultat en cultivant le maïs sur solutions nutritives stériles, contenant l'azote à l'état de sulfate d'ammonium.

Lutz (3) établit enfin, toujours en milieu aseptique, que des phanérogames, des algues, des champignons assimilent l'azote des *amines* grasses, sans que celui-ci ait été préalablement transformé en ammoniaque ou acide azotique. Les champignons assimilent les *amides* qui suivent : formiamide, acétamide, propionamide, butyramide, asparagine, *urée*, succinamide et oxamide. Lutz pense que l'assimilation des amides a lieu sans hydrolyse préalable. La présence de l'*uréase* dans les végétaux et celle de l'*amidase* d'Effront dans la levure de bière sont peu favorables à cette interprétation.

Les résultats, obtenus par divers auteurs, en ce qui concerne la nutrition végétale aux dépens de l'urée sont contradictoires. Ces divergences disparaîtraient sans doute, si l'on instituait de

(1) Muntz, Sur le rôle de l'ammoniaque dans la nutrition des végétaux supérieurs. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1889, t. CIX, p. 646.
(2) Mazé, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1898, t. CXXVII, p. 1031; ces *Annales*, 1900, p. 26-45.
(3) Lutz, Thèse de la Faculté des Sciences de Paris, 1898. — Recherches sur la nutrition des thallophytes à l'aide des amides. *Bull. Société Botanique*, 1901, t. XLVIII, p. 325-334.

nouvelles expériences tenant compte de la rupture hydrolytique de la carbamide par l'uréase et de la sensibilité bien connue des plantes à l'ammoniaque libre ou carbonatée.

Tandis que Czapek (1) voit dans l'urée un bon aliment pour les champignons, Sawa (2) annonce que la solution de ce corps à 2/1.000 exerce une action nuisible sur de jeunes plantes à bulbes et que les cultures de maïs sur milieu Knopp souffrent en présence de certaines quantités de carbamide.

D'après Loew l'urée à 1/1.000 tue spirogires et infusoires.

(1) CZAPEK, *Biochemie der Pflanzen*, 1905, t. II, p. 923.
(2) SAWA, *Action toxique de l'urée sur les Phanérogames*.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TABLE DES PLANCHES

TABLE GÉNÉRALE ALPHABÉTIQUE

PAR NOMS D'AUTEURS

DES TOMES XXVI A XXX

TABLE ANALYTIQUE

DES SUJETS TRAITÉS

DANS LES TOMES XXVI A XXX

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

Siège de la Société : Institut Pasteur, Paris

Paraît 10 fois par an, 15 jours après chaque séance qui a lieu le 2e mercredi du mois, sauf en août et septembre.

Le volume de 1915, qui atteint 800 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte, ne le cède en rien, malgré les circonstances, à ceux des années précédentes.

PRIX DE L'ABONNEMENT :

France : 18 fr. — Union postale : 20 fr.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.